

10/561022

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2005 年 1 月 6 日 (06.01.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/001116 A1(51) 国際特許分類⁷: C12Q 1/02, C12N 5/10, G01N 33/50, 33/15, C12N 15/10, A61K 45/00, A23L 1/48 // (C12N 5/10, C12R 1:91) (C12N 15/12, C12R 1:91)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2004/002920

(22) 国際出願日: 2004 年 3 月 5 日 (05.03.2004)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2003-172132 2003 年 6 月 17 日 (17.06.2003) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 明治乳業株式会社 (MEIJI DAIRIES CORPORATION) [JP/JP]; 〒1368908 東京都江東区新砂 1 丁目 2 番 1 0 号 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 齋藤 忠夫 (SAITO, Tadao) [JP/JP]; 〒9810943 宮城県仙台市青葉区国見 6 丁目 9 - 8 Miyagi (JP). 下里 剛士 (SHIMOSATO, Takeshi) [JP/JP]; 〒9830836 宮城県仙台市宮城野区幸町 2 - 5 - 3 5 幸町アヴェニュー 1 1 0 号 Miyagi (JP). 北澤 春樹 (KITAZAWA, Haruki) [JP/JP]; 〒9813213 宮城県仙台市泉区南中山 4 丁目 9 - 9 Miyagi (JP).

(74) 代理人: 清水 初志, 外 (SHIMIZU, Hatsushi et al.); 〒3000847 茨城県土浦市卸町 1 - 1 - 1 関鉄つくばビル 6 階 Ibaraki (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ユーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

規則4.17に規定する申立て:

— すべての指定国のための不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て (規則4.17(v))

添付公開書類:

— 国際調査報告書
— 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: UTILIZATION OF CELL FORCIBLY EXPRESSING TOLL-LIKE RECEPTOR

(54) 発明の名称: Toll様レセプター強制発現細胞の利用

(57) Abstract: A cell forcibly expressing swine Toll-like receptor 9 (TLR9) is prepared by cloning a TLR9 gene from swine intestinal tract Peyer's patches. As the results of functional analysis on CpG DNAs using the above cell, it is clarified that swine TLR9 shows higher recognizability for a human CpG DNA motif (CpG2006) than for a mouse-specific CpG DNA motif (CpG1826). When mRNA expression amounts in various tissues are compared by the Real-time PCR method, it is found out that mRNA is expressed in Peyer's patches and intestinal tract membrane lymph nodes, which play important roles in the intestinal tract immune system, in an amount thrice or more as much as in spleen. Thus, the cell forcibly expressing TLR, which is expressed in intestinal tract tissues (for example, TLR9), is usable in identifying a sample capable of activating the intestinal tract immune system.

(57) 要約: Toll様レセプター9 (TLR9) 遺伝子をブタ腸管パイエル板よりクローニングし、ブタTLR9を強制発現させた細胞を作製した。該細胞を用いたCpG DNAに対する機能性解析を行なった結果、ブタTLR9はマウス特異的CpG DNAモチーフ (CpG1826) よりもヒトのCpG DNAモチーフ (CpG2006) に対する認識性が高いことが判明した。さらにReal-time PCR法によりmRNAの発現量を各種組織において比較した結果、腸管免疫系で中心的な役割を果たすパイエル板および腸管膜リンパ節において、脾臓の3倍以上のmRNAが発現していることが判明した。よって、TLR9等の腸管組織において発現しているTLRを強制発現させた細胞は、腸管免疫系を活性化する試料の同定に利用できる。

WO 2005/001116 A1

BEST AVAILABLE COPY

明細書

Toll様レセプター強制発現細胞の利用

5 技術分野

本発明は、Toll様レセプター強制発現細胞の利用法に関する。

背景技術

生体の免疫システムには先天的な自然免疫と後天的に生じる獲得免疫の2種類がある。ヒト等の高等生物にしか存在しない獲得免疫に対して、自然免疫は昆虫からヒトまで広く保存された免疫機構である。自然免疫を担当する細胞（マクロファージや樹状細胞等）は外界からの病原細菌等が侵入すると、すばやくこれを探知し、食作用等の直接的な攻撃に加え、サイトカイン等の警戒シグナルを発して獲得免疫系を活性化するという感染防御の第一段階として機能している。この様な一連の免疫反応システムにおいて最初のきっかけとなる細菌を発見する役目を果たしている受容体タンパクがToll様レセプター（Toll-like receptor ; TLR）である。TLRは現在までにヒトにおいて10種類が同定されており、それぞれのTLRは認識する分子構造が異なるものと考えられている（非特許文献1）。その中で2000年に審良らの研究グループによって報告されたTLR9は細菌のDNA、特にCpGモチーフを認識するレセプターとして同定された（非特許文献2、特許文献1）。

すでに、リポペプチドがヒトTLR2を強制発現させたCHO細胞におけるNF- κ Bの発現活性に与える影響について、また、病原性大腸菌由来CpG DNAの様々なモチーフがヒトTLR9を強制発現させたHEK293細胞におけるサイトカイン(IL-8)の産生量に与える影響について報告されている（非特許文献3～5）。

25 尚、本出願の発明に関連する先行技術文献情報を以下に示す。

〔特許文献1〕 特開2002-34565

- 2 -

〔非特許文献1〕 O. Takeuchi, S. Akira, International Immunopharmacology 1 (2001) 625-635

〔非特許文献2〕 H. Hemmi et al, Nature 408 (2000) 740-745

〔非特許文献3〕 Yoshimura A. Takada H. Kaneko T. Kato I. Golenbock D. Har
5 a Y. Structural requirements of muramylpeptides for induction of Toll-like
receptor 2-mediated NF-kappaB activation in CHO cells. Journal of Endotoxin
Research. 6(5):407-10, 2000.

〔非特許文献4〕 Klinman DM. Takeshita F. Gursel I. Leifer C. Ishii KJ. Verthelyi D. Gursel M. CpG DNA: recognition by and activation of monocytes.
10 Microbes & Infection. 4(9):897-901, 2002 Jul.

〔非特許文献5〕 Takeshita F. Leifer CA. Gursel I. Ishii KJ. Takeshita S.
Gursel M. Klinman DM. Cutting edge: Role of Toll-like receptor 9 in CpG DNA-induced
activation of human cells. Journal of Immunology. 167(7):3555-
8, 2001 Oct 1.

15

発明の開示

本発明者らはこれまでにプロバイオティック乳酸菌を含む乳業用乳酸菌由来のDNAモチーフが腸管免疫系において免疫賦活化機能を有することを明らかにしてきた (H. Kitazawa et al, Int. J. Food Microbiol. 65 (2001) 149-162、H. Kitazawa et al, Int. J. Food Microbiol, (2003) in press)。本発明者らは、この
20 知見からTLR9が病原細菌由来DNAのみならず、食餌性乳酸菌由来のDNAに対しても認識性を持ち、免疫の活性化に寄与する可能性を考えた。多様なDNAモチーフに対する認識性および活性評価系の構築が可能となれば、今後、病原性細菌の負の評価のためのみならず、乳業用乳酸菌を用いた機能性食品開発の上で重要なツール
25 となる。

機能性食品の開発を考える場合、最終的にヒトに対する効果を評価する必要がある

- 3 -

あるが、その基礎的知見を得るためには、動物細胞および実験動物を用いた検討が必要不可欠となる。そこで本発明では、実験対象動物として、臓器移植等の観点からヒトモデル系としてその利用性が期待され、また食品産業の面から大きな価値を持つブタに着目し、ブタのTLR9遺伝子のクローニングと、その遺伝子を導
5 入し強制発現させた動物細胞を作製し、機能性DNA評価系のためのTLR9強制発現細胞を構築することを考えた。

本発明は、このような状況に鑑みてなされたものであり、その目的は、TLR強制発現細胞の利用法を提供することを目的とする。

本発明者らは、病原細菌由来のCpG DNAモチーフを認識する受容体タンパクToll
10 様レセプター9遺伝子をブタ腸管パイエル板よりクローニングし、ブタTLR9 (sTLR9) を強制発現させた動物細胞 (トランスフェクタント) を作製した。動物細胞におけるsTLR9タンパクの発現の有無は、sTLR9に対するポリクローナル抗体を作成し、同抗体を用いて確認した。さらに、sTLR9トランスフェクタントのCpG DNAに対する機能性を解析し、乳酸菌DNAの活性評価系への応用を目指した。

15 具体的には、下記 (1) ~ (5) を行った。

(1) ブタ腸管パイエル板よりTotal RNAを抽出し、ヒトおよびマウスTLR9遺伝子における保存性の高い領域より作製したプライマーを用いてRT-PCR法、RACE法によりブタTLR9遺伝子をクローニングし、その全遺伝子配列を決定した。

(2) 遺伝子情報から得られたブタTLR9全アミノ酸配列から抗原決定基部位を探索し、選抜した領域をペプチド合成しブタTLR9ポリクローナル抗体作製用
20 抗原とした。抗原は化学合成後、定法によりウサギに免疫し、ブタTLR9に対するポリクローナル抗体を作成した。

(3) ブタTLR9遺伝子をHEK293T細胞 (ヒト胎児腎細胞) に導入し、ブタTLR9遺伝子導入細胞 (トランスフェクタント) を作製した。

25 (4) ブタTLR9のHEK293Tにおける発現については、ブタTLR9 mRNAの発現をRT-PCR法により、また、ブタTLR9膜タンパクの発現をブタTLR9ポリクローナル抗

- 4 -

体による免疫染色法によりレーザー顕微鏡およびフローサイトメーターを用いて確認した。

(5) ヒトおよびマウス細胞を強く刺激する特異的CpG DNAモチーフを含むオリゴDNA(それぞれCpG2006, CpG1826)に対する反応性を解析した。

- 5 検討の結果、ブタTLR9遺伝子は1029残基 (MW:115.8) のアミノ酸をコードする3090塩基からなり、その遺伝子を含め3145塩基のcDNA塩基配列を決定することができた。ブタTLR9のアミノ酸配列はヒトTLR9に対して82.9%と非常に高く、マウスTLR9には74.9%の相同性を示したことから、ヒトTLR9に対してマウスよりも比較的高い相同性を示すことが明らかとなった。ブタTLR9トランスフェクタントにおける
- 10 ブタTLR9タンパク質はRT-PCR法およびブタTLR9ポリクローナル抗体の免疫染色から確実に発現し、膜タンパク質として発現したことを確認できた。このことは、ブタTLR9トランスフェクタントの作製に成功したことを意味する。本トランスフェクタントを用いたCpG DNAに対する機能性解析よりブタTLR9はCpG1826よりもCpG2006に対して強い反応性を示したことから、ブタTLR9はマウス特異的CpG DNAモチーフよりも比較的ヒトのモチーフに対する認識性が高いことが判明した。Real-time PCR法によりmRNAの発現量を各種組織において比較した結果、驚くべきことに、腸管免疫系で中心的な役割を果たすパイエル板および腸管膜リンパ節において、脾臓の3倍以上のmRNAが発現していることが判明した。

即ち、本発明は、以下の〔1〕～〔21〕を提供するものである。

- 20 〔1〕被験試料が腸管免疫系を活性化するか否かを評価する方法であって、
- (a) 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞に、被験試料を接触させる工程
 - (b) 該細胞におけるシグナル伝達を指標に、該Toll様レセプターの活性を測定する工程
- 25 を含み、上記Toll様レセプターの活性が、上記被験試料を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験試料が腸管免疫系を活性化すると判定され

- 5 -

る方法。

〔2〕以下の（a）および（b）の工程を含む、腸管免疫系を活性化する試料のスクリーニング方法。

5 （a）〔1〕に記載の評価方法により、複数の被験試料について、腸管免疫系を活性化するか否かを評価する工程

 （b）複数の被験試料から、腸管免疫系を活性化すると評価された試料を選択する工程

10 〔3〕〔2〕に記載の工程に、さらに腸管免疫系を活性化すると評価された試料と医薬上許容される担体とを混合する工程を含む、腸管免疫系を活性化する医薬組成物の製造方法。

〔4〕被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを評価する方法であって、

 （a）被験微生物から抽出物を調製する工程

15 （b）腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞に、該抽出物を接触させる工程

 （c）該細胞におけるシグナル伝達を指標に、該Toll様レセプターの活性を測定する工程

20 を含み、上記Toll様レセプターの活性が、上記抽出物を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であると判定される方法。

〔5〕以下の（a）および（b）の工程を含む、腸管免疫系を活性化する微生物のスクリーニング方法。

 （a）〔4〕に記載の評価方法により、複数の被験微生物について、腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを評価する工程

25 （b）複数の被験微生物から、腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物を選択する工程

- 6 -

- 〔6〕 〔5〕に記載の工程に、さらに腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物と食品上許容される担体とを混合する工程を含む、腸管免疫系を活性化する食品組成物の製造方法。
- 〔7〕 微生物が乳酸菌であり、食品組成物が乳製品である、〔6〕に記載の方法。
- 5 〔8〕 微生物が細菌である、〔4〕～〔6〕のいずれかに記載の方法。
- 〔9〕 細菌が乳酸菌である、〔8〕に記載の方法。
- 〔10〕 腸管組織において発現しているToll様レセプターをコードするDNAを有する発現ベクターを細胞に導入する工程を含む、腸管免疫担当細胞のモデル細胞の製造方法。
- 10 〔11〕 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞を、腸管免疫担当細胞のモデル細胞として使用する方法。
- 〔12〕 腸管組織が腸管リンパ系組織である、〔1〕～〔11〕のいずれかに記載の方法。
- 〔13〕 腸管リンパ系組織がパイエル板または腸管リンパ節である、〔12〕に記載の方法。
- 15 〔14〕 Toll様レセプターがブタ由来である、〔1〕～〔13〕のいずれかに記載の方法。
- 〔15〕 Toll様レセプターがToll様レセプター9である、〔1〕～〔13〕のいずれかに記載の方法。
- 20 〔16〕 〔1〕～〔9〕のいずれかに記載の方法に用いるための、腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞。
- 〔17〕 腸管組織において発現しているToll様レセプターをコードするDNAを有する発現ベクターを細胞に導入することで製造される、腸管免疫担当細胞のモデル細胞。
- 25 〔18〕 腸管組織が腸管リンパ系組織である、〔16〕または〔17〕に記載の細胞。

- 7 -

〔19〕腸管リンパ系組織がパイエル板または腸管リンパ節である、〔18〕に記載の細胞。

〔20〕Toll様レセプターがブタ由来である、〔16〕～〔19〕のいずれかに記載の細胞。

- 5 〔21〕Toll様レセプターがToll様レセプター9である、〔16〕～〔19〕のいずれかに記載の細胞。

免疫活性化に関与するToll様レセプター9 (Toll-like receptor 9 ; TLR9) は、脾臓において強く発現していることが知られていた (Zarembek KA. and Godowski PJ. *Journal of Immunology*. 168 (2002) 554-561)。これに対し、本発明者らは、TLR9が腸管リンパ系組織、特にパイエル板や腸管膜リンパ節において強く発現していることを初めて見出した。

10

腸管は体内と体外の境界組織として、経口摂取された栄養成分の吸収のみならず、外界からの刺激(細菌やウイルスなどの微生物、薬剤や食品添加物、食物に付着した農薬や環境汚染物質など)に常に接触しており、これら異物の受容、伝達、応答、および排除など種々の第一線生体防御機構(first defense line)が存在している (Mantis NJ. et al, *J. Immunol.* 169 (2002) 1844-1851)。さらに防御機構として特有のリンパ組織、腸管関連リンパ組織(GALT; gut-associated lymphoid tissue)が存在し、GALTは非集合性組成と集合性組成から構成され、非集合性組成には腸管上皮間リンパ球と粘膜固有層リンパ球が含まれ、集合性組成にはパイエル板、リンパ濾胞および腸管膜リンパ節が含まれる (Spahn TW. et al, *Eur. J. Immunol.* 32 (2002) :1109-1113)。パイエル板はリンパ組織関連上皮(Follicle-associated epithelium; FAE)に覆われ、腸管絨毛の存在しない部位でドーム形態をなしている。また、胚中心を持ちB細胞の存在する濾胞域(follicular area)と、ヘルパーT細胞を含む傍濾胞域(parafollicular area)を備えている (Owen RL. *Sem. Immunol.* 11 (1999) 157-163)。腸管の局所免疫機構の最初の役割を果たす細胞として、FAEには特殊な上皮細胞であるMembranous epithelial cells(M

15

20

25

- 8 -

cells ; M細胞) が散在し、細胞質を通して基底表層へとつながる抗原のトンネルとしてリンパ球や樹状細胞、マクロファージなど抗原提示細胞 (antigen presenting cell) との接触のためM細胞膜は深く陥入している。気管上皮粘膜においてもM細胞の存在は確認されており、結核菌などの病原体の入り口として貢献していることが報告されている (Teitelbaum R. et al, *Immunity*. 10 (1999) 641-650) 。

また、食品中に含まれる機能性因子のみならず微生物や食物抗原の入り口としても存在することが認められている。腸管内の抗原 (特に高分子) はM細胞に取り込まれた後、パイエル板の内部へと運ばれ、パイエル板内部の樹状細胞、マクロファージなどのMHC (major histocompatibility complex) クラスII陽性の抗原提示細胞に接触する (Kaneko K. et al, *J. Veterinary. Med. Sci.* 61 (1999) 1175-1177、Gebert A. et al, *American J. Pathology*. 154 (1999) 1573-1582、Jensen VB. et al, *Infection & Immunity*. 66 (1998) 3758-3766、Penheiter KL. et al, *Mol. Microbiol.* 24 (1997) 697-709、Debard N. et al, *Gastroenterology*. 120 (2001) 1173-1182、Gebert A. et al, *Int. Rev. Cytology*. 167 (1996) 91-159) 。抗原刺激を受けたヘルパーT細胞はFcレセプターや抗体結合因子 (IBF)、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6を産生し、抗原提示を受け活性化したT細胞およびB細胞は循環帰巢 (homing) という現象を開始し、腸管膜リンパ節を経て、胸腺に入り、体内循環して実行組織である腸管粘膜固有層、乳腺、涙腺、唾液腺、泌尿生殖器などに送られ、さらにB細胞は形質細胞となってIgAを産生する。分泌型IgAは、腸管およびその他の粘膜組織に侵入したウイルス、細菌、細菌毒素、アレルゲンなどを排除する役割を果たしている (Vaerman JP. et al, *Immunology*. 54 (1985) 601-603、Machtinger S. and Moss R. J. *Allergy. Clinical. Immunol.* 77 (1986) 341-347、Mathewson JJ. et al, *J. Infectious Diseases*. 169 (1994) 614-617) 。さらにパイエル板の下には腸管膜リンパ節が発達し、パイエル板を越える多くのリンパ球、樹状細胞、マクロファージが待機している。このように、パイエル板や腸管膜リンパ節は、腸管免疫系 (上記のような腸管に存在する免疫系) におい

- 9 -

て中心的な役割を果たすことが知られている。

一方、TLR4抗体、IRAK抗体を用いて、サルの腸管上皮からのFITC標識したTLR4のリガンドとして知られるLPS（リポポリサッカライド）の取り込みと腸管粘膜上皮細胞との関係について解析した結果、LPSが腸管上皮細胞中のTLR4とIRAKを発現する細胞により取り込まれ、粘膜固有層にまで運ばれる様子が観察された（Imaeda H. et al, Histochemical Cell Biology. 118 (2002) 381-388）。以上を考慮すると、TLR9等の腸管組織において発現しているTLRは、腸管免疫系に関与していると考えられる。

本発明は、以上の知見に基づき、被験試料が腸管免疫系を活性化するか否かを評価する方法を提供する。該評価方法としては、まず、腸管組織において発現しているTLRを強制発現させた細胞（TLRトランスフェクタント）に、被験試料を接触させる。この工程により、被験試料を、トランスフェクタント表面のTLRに接触させる。次いで、該TLRトランスフェクタントにおけるシグナル伝達を指標に、該TLRの活性を測定する。該評価方法においては、該TLRの活性が、被験試料を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験試料が腸管免疫系を活性化すると判定される。

本発明において、被験試料としては、例えば、DNA、DNA断片、天然化合物、有機化合物、無機化合物、タンパク質、ペプチド等の単一化合物、並びに、化合物ライブラリー、遺伝子ライブラリーの発現産物、非哺乳動物細胞培養上清、非哺乳動物細胞抽出物、発酵微生物産生物、微生物培養上清、微生物抽出物、海洋生物抽出物、植物抽出物等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。上記DNA断片としては、由来する生物に制限はないが、CpGモチーフ、ATモチーフまたはCpG様モチーフを有するDNA断片が好ましい。また、上記微生物抽出物としては、例えば、細胞壁、細胞膜、DNA、RNA、鞭毛等が挙げられる。また、該微生物としては、細菌、酵母等を例示できる。また、該細菌としては、病原性細菌、乳酸菌等を挙げることができる。上記被験試料は必要に応じて適宜標識し

- 10 -

て用いることができる。標識としては、例えば、放射標識、蛍光標識等を挙げることができる。

また、本発明における腸管としては、十二指腸、空腸、回腸等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。また、本発明における腸管組織としては、特に制限はないが、好ましくは腸管リンパ系組織、より好ましくはパイエル板または腸管リンパ節、さらに好ましくは回腸由来パイエル板または回腸由来腸管リンパ節が挙げられる。

また、腸管組織において発現しているTLRには、全てのタイプのTLRが包含され、例えばTLR1～TLR10が挙げられる。現在までに10種類のTLRの存在が報告されており、TLRファミリーはそれぞれ認識分子すなわち細菌性モデュリンが異なると考えられている。細菌性モデュリンとは、細菌に特異的な分子パターン（pathogen associated molecular patterns; PAMPs）で、宿主に対しサイトカイン誘導能を示し、免疫応答を制御するものと定義されている。また、TLRは、細胞外にロイシンリッチリピート（LRRs）、細胞内にインターロイキン1受容体と相同性のある領域（TIRドメイン）を持つことが知られている。また、腸管組織において発現しているTLRが由来する生物としては、ブタ、ヒト、マウス、ネコ等、無脊椎、脊椎動物全般あるいは生物一般が挙げられる。

本発明におけるTLR9としては、例えば、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質が挙げられる。配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質をコードするDNAは、例えば、胸腺、肺臓、脾臓、十二指腸、パイエル板および腸管膜リンパ節よりRNAを調製し、逆転写酵素によりcDNAを合成した後、配列番号：1、3、5または7に基づいてオリゴDNAを合成し、これをプライマーとして用いてPCR反応を行い、上記タンパク質をコードするcDNAを増幅させることにより調製できる。

また、本発明におけるTLR9には、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質も含まれる。このような

- 11 -

タンパク質には、例えば、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質の変異体、アレル、バリエーション、ホモログ等が含まれる。ここで「機能的に同等」とは、対象となるタンパク質が、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と同等の生物学的機能（生物学的役割）、生化学的機能（生化学的活性）を有することを指す。

TLRは菌体成分を認識すると細胞内シグナル伝達系を活性化し、共通のアダプター分子MyD88を介してIL-1 receptor associated kinase (IRAK)、TNF receptor associated factor 6 (TRAF6)、そして転写因子であるNF- κ Bの核移行を促し、最終的にtumor necrosis factor α (TNF- α)、interleukin(IL)-6、IL-12、IL-18、IFN- γ などといった様々な炎症性サイトカインの産生や、細胞表面共刺激因子 (co-stimulatory molecule) の発現を誘導する (Kaisho T. and Akira S. Trends in Immunology. 22 (2001) 78-83)。TLRは主に病原体の糖質、脂質や核酸を認識することから、タンパクを認識する獲得免疫と相補的であるといえる。

すなわち、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質の生物学的機能、生化学的機能としては、微生物成分認識能、細胞内シグナル伝達系を活性化能、炎症性サイトカイン発現誘導能、細胞表面共刺激因子発現誘導能などが挙げられる。

あるタンパク質と機能的に同等なタンパク質をコードするDNAを調製する方法としては、ハイブリダイゼーション技術 (Sambrook, J et al., Molecular Cloning 2nd ed., 9.47-9.58, Cold Spring Harbor Lab. press, 1989) を利用する方法が挙げられる。即ち、配列番号：1、3、5または7に記載の塩基配列もしくはその一部を利用して、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質をコードするDNAを単離することができる。

配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質をコードするDNAを単離するためのハイブリダイゼーションの条件は、当業者であれば適宜選択することができる。ハイブリダイゼーション

- 12 -

の条件としては、例えば、低ストリンジェントな条件が挙げられる。低ストリンジェントな条件とは、ハイブリダイゼーション後の洗浄において、例えば42℃、5xSSC、0.1%SDSの条件であり、好ましくは50℃、5xSSC、0.1%SDSの条件である。

より好ましいハイブリダイゼーションの条件としては、高ストリンジェントな条件が挙げられる。高ストリンジェントな条件とは、例えば65℃、0.1xSSC及び0.1%SDSの条件である。これらの条件において、温度を上げる程に高い相同性を有するDNAが効率的に得られると考えられる。但し、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに影響する要素としては温度や塩濃度等複数の要素が考えられ、当業者であればこれら要素を適宜選択することで同様のストリンジェンシーを実現することが可能である。

また、配列番号：1、3、5または7に記載の配列情報を基に合成したプライマーを用いる遺伝子増幅法、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法を利用して、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質をコードするDNAを単離することも可能である。

これらハイブリダイゼーション技術や遺伝子増幅技術により単離されるDNAがコードする、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質と機能的に同等なタンパク質は、通常、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列を含むタンパク質とアミノ酸配列レベルにおいて高い相同性を有する。高い相同性とは、アミノ酸レベルにおいて、少なくとも60%以上の同一性、好ましくは70%以上の同一性、より好ましくは80%以上の同一性、さらに好ましくは90%、よりさらに好ましくは95%以上、最も好ましくは98%以上の同一性を指す。

アミノ酸配列や塩基配列の同一性は、Karlin and Altschulによるアルゴリズム BLAST (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877, 1993) によって決定することができる。このアルゴリズムに基づいて、BLASTNやBLASTXと呼ばれるプログラムが開発されている (Altschul et al. J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990)。BLASTに

- 13 -

基づいてBLASTNによって塩基配列を解析する場合には、パラメーターはたとえばscore = 100、wordlength = 12とする。また、BLASTに基づいてBLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメーターはたとえばscore = 50、wordlength = 3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)。 5

また、配列番号：2、4、6または8に記載のアミノ酸配列において1もしくは複数のアミノ酸が変異したアミノ酸配列からなるタンパク質も本発明に含まれる。このようなアミノ酸の変異は自然界においても生じうる。変異するアミノ酸数は、 10 通常、30アミノ酸以内であり、好ましくは15アミノ酸以内であり、より好ましくは5アミノ酸以内であり、さらに好ましくは2アミノ酸以内である。

本発明の方法においては、上記TLRトランスフェクタントが使用される。該TLRトランスフェクタントは、腸管組織において発現しているTLRをコードするDNAを含む発現ベクターを細胞に導入することで製造することができる。該発現ベクターとしては、例えば、哺乳動物由来の発現ベクター（例えば、pcDNA3（インビトロゲン社製）や、pEGF-BOS（Nucleic Acids. Res. 1990, 18(17), p5322）、pEF、pCD 15 M8）、昆虫細胞由来の発現ベクター（例えば「Bac-to-BAC baculovirus expression system」（インビトロゲン社製）、pBacPAK8）、動物ウイルス由来の発現ベクター（例えば、pHSV、pMV、pAdexLcw）、レトロウイルス由来の発現ベクター 20 （例えば、pZIPneo）が挙げられる。

CHO細胞、COS細胞、NIH3T3細胞等の動物細胞での発現を目的とした場合には、細胞内で発現させるために必要なプロモーター、例えばSV40プロモーター（Mulligan et al., Nature (1979) 277, 108）、MMLV-LTRプロモーター、EF1 α プロモーター（Mizushima et al., Nucleic Acids Res. (1990) 18, 5322）、CMVプロモーター等を持っていることが不可欠であり、細胞への形質転換を選抜するための遺伝子（例えば、薬剤（ネオマイシン、G418等）により判別できるような薬剤耐性 25

- 14 -

遺伝子)を有すればさらに好ましい。

- さらに、遺伝子を安定的に発現させ、かつ、細胞内での遺伝子のコピー数の増幅を目的とする場合には、核酸合成経路が欠損したCHO細胞にそれを相補するジヒドロ葉酸還元酵素遺伝子 (dhfr遺伝子) を有するベクター (例えば、pCHOI等) を
- 5 導入し、メトトレキセート (MTX) により増幅させる方法が挙げられ、また、遺伝子の一過性の発現を目的とする場合には、SV40 T抗原を発現する遺伝子を染色体上に持つCOS細胞を用いてSV40の複製起点を持つベクター (pcD等) で形質転換する方法が挙げられる。複製開始点としては、また、ポリオーマウイルス、アデノウイルス、ウシパピローマウイルス (BPV) 等の由来のものを用いることもできる。
- 10 さらに、宿主細胞系で遺伝子コピー数増幅のため、発現ベクターは選択マーカーとして、アミノグリコシドトランスフェラーゼ (APH) 遺伝子、チミジンキナーゼ (TK) 遺伝子、dhfr遺伝子等を含むことができる。

- また、宿主細胞としては、例えば、哺乳類細胞、昆虫類細胞等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。哺乳類細胞としては、例えば、HEK293T細胞、
- 15 CHO (J. Exp. Med. (1995) 108, 945)、COS、NIH3T3、ミエローマ、BHK (baby hamster kidney)、HeLa、Vero、昆虫類細胞としては、例えば、Sf9、Sf21、Tn5が知られている。

- CHO細胞としては、特に、dhfr遺伝子を欠損したCHO細胞であるdhfr-CHO (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1980) 77, 4216-4220) やCHO K-1 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1968) 60, 1275) を好適に使用することができる。動物細胞において、
- 20 大量発現を目的とする場合には特にCHO細胞が好ましい。また、宿主細胞としては、不死化した細胞株が好ましい。

- 宿主細胞へのベクターの導入は、例えば、リン酸カルシウム法、DEAEデキストラン法、カチオニックリボソームDOTAP (ロッシュダイアグノスティックス社製)
- 25 を用いた方法、エレクトロポレーション法、リポフェクション等当業者に周知の方法で行うことが可能である。

- 15 -

本発明においては、上記トランスフェクタントにおけるシグナル伝達を指標に、TLRの活性を測定する。TLRの活性は、例えば、サイトカイン（例えばIL-6、IL-12、IFN- γ 、TNF- α 等）の発現、シグナル伝達経路における分子（例えばNF- κ B、JNK、IRAK等）の活性化等を指標に測定できる。サイトカインの発現は、mRNAレベルでもタンパク質レベルでも行うことが可能である。例えば、サイトカインのタンパク質レベルでの発現は、ヒトIL-6、IL-12、TNF- α 、IFN- γ ELISA kit（株式会社テイエフビー（TFB, INC.））等の既存のヒト用キットを使用することで測定できる。また、シグナル伝達経路における分子の活性上昇は、ルシフェラーゼアッセイで行うことが可能である。例えば、ブタTLRトランスフェクタントにNF- κ Bおよびルシフェラーゼ遺伝子を含むプラスミドベクター（pGLM-ENH）をトランスフェクションし、18時間後にリガンド（DNA等）で刺激する。刺激24時間後に細胞を溶解後、細胞溶解液を回収し測定まで-80℃で保存する。ルシフェラーゼ活性は、細胞溶解液にルシフェリンを含む反応液を添加後、2秒後から8秒間にわたる発光の変化を測定する。各試料で3回同様の操作を行い、その平均をとる。以上の測定で発光が強い程、NF- κ Bの活性が強いことを示す。

本発明はまた、腸管免疫系を活性化する試料のスクリーニング方法を提供する。本発明におけるスクリーニング方法としては、上記評価方法を利用して、複数の被験試料について、腸管免疫系を活性化するか否かを評価し、腸管免疫系を活性化すると評価された試料を選択する。

また、腸管組織において発現しているTLRに結合する試料を予めスクリーニングし、これにより得られた試料を被験試料として用いてもよい。腸管組織において発現しているTLRに結合する試料のスクリーニングに用いられるTLRは、組換えタンパク質であっても、天然由来のタンパク質であってもよい。また、スクリーニングに用いられるTLRは部分ペプチドであってもよい。腸管組織において発現しているTLRに結合する試料のスクリーニング方法としては、まず、複数の被験試料を腸管組織において発現しているTLRに接触させる。次いで、該TLRと被験試料との

- 16 -

結合を検出する。次いで、該TLRと結合する被験試料を選択する。TLRと被験試料との結合は、当業者に周知の方法で検出できる。

上記評価方法またはスクリーニング方法によって得られた試料は、免疫賦活化機能を有する試料として、例えば、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防
5 に使用できる。

さらに、本発明においては、腸管免疫系を活性化する医薬組成物の製造方法を提供する。本発明の医薬組成物は、免疫賦活化機能を有する医薬組成物として、例えば、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防に使用できる。また、本発明の医薬組成物は、好ましくはワクチンとして使用される。

- 10 本発明の医薬組成物の製造方法においては、上記スクリーニング方法によって腸管免疫系を活性化すると評価された試料と医薬上許容される担体とを混合する。医薬上許容される担体としては、例えばアジュバント（抗体産生増強剤）が挙げられる。また、界面活性剤、賦形剤、着色料、着香料、保存料、安定剤、緩衝剤、懸濁剤、等張化剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、流動性促進剤、矯味剤等も医薬上
15 許容される担体として挙げられるが、その他常用の担体を適宜使用することができる。具体的には、軽質無水ケイ酸、乳糖、結晶セルロース、マンニトール、デンプン、カルメロースカルシウム、カルメロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、中鎖脂肪酸トリグリセリド、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60、白糖、カルボキシメチルセル
20 ロース、コーンスターチ、無機塩類等を挙げるができる。このようにして製造された腸管免疫系を活性化する医薬組成物は、経口剤または注射剤として使用できる。

- また、本発明は、被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを
25 評価する方法も提供する。本発明における微生物としては、細菌、酵母等が例示できるが、これらに限定されるものではない。また、細菌としては、特に制限は

- 17 -

ないが、乳酸菌（例えば腸管常在乳酸菌や乳業用乳酸菌）が挙げられる。

該評価方法においては、まず、被験微生物から抽出物を調製する。微生物抽出物としては、例えば、細胞壁、細胞膜、DNA、RNA、鞭毛等が挙げられる。また、該DNAとしては、CpG モチーフ、ATモチーフまたはCpG 様モチーフを有する断片が
5 好適である。このような抽出物は、当業者に周知の方法によって微生物から調製できる。

以下に、乳業用乳酸菌からCpG モチーフ、ATモチーフまたはCpG 様モチーフを有する断片の調整方法を例示するが、本発明の方法はこれに限定されない。

*Lactobacilli*はLactobacilli MRS Broth(Difco laboratories, Detroit, MI, U
10 SA)で、*Streptococci*はEllicker brothでそれぞれ3回継代培養(37℃, 24時間)後、50mlの培地に1%接種し、37℃で16時間培養する。菌体を遠心(3,000xg, 4℃, 20分間)集菌し、TE緩衝液(10mM Tris-Cl, 1mM EDTA pH7.5)で2回遠心(4,000xg, 4℃, 20分間)洗浄後、5.0mlのTE緩衝液に再懸濁する。この菌液に、2.5mlのリゾチーム(生化学工業、東京、30mg/ml)、20 μ lのN-アセチルムラミダーゼSG(生化学工業、
15 東京、250 μ g/ml)を加え、37℃で10~30分間反応する。反応後、10mlの0.1M Tris-1% SDS溶液を添加し、穏やかに攪拌する。これにプロテイナーゼK(TaKaRa, 京都20mg/ml, 150 μ l)溶液を加え、37℃で一晩反応させる。反応後、5M NaCl溶液(2.5ml)を加え攪拌し、滅菌したビーカーに移す。100%エタノール(50ml)を加えることにより核酸を沈殿させ、生じた沈殿を滅菌したガラス棒を用いて巻き取り、70%エ
20 タノールで洗浄後、TE緩衝液(10ml)に溶解し、一晩4℃下で完全に溶解させる。RNaseA(SIGMA, 10mg/ml, 100 μ l)を加え、37℃で60分間インキュベートした後、1/10量の5M NaCl(1ml)及び等量の100%エタノールを加え、核酸を沈殿させる。生じた沈殿を滅菌したガラス棒を用いて巻き取り、70%エタノールで洗浄後、TE緩衝液(2ml)に溶解する。以上の操作でDNAが精製され、使用までの間4℃下で保存する。染色
25 体DNAはSau 3AI (制限酵素)により切断処理し、3%アガロースゲル電気泳動に供する。アガロースゲルよりDNAを回収し、プラスミドベクターにライゲーション

- 18 -

後、クローニングしDNA配列をシークエンサーにて決定し、CpG モチーフ、ATモチーフまたはCpG 様モチーフを有する断片を調製する。

該評価方法においては、次いで、該抽出物をTLRトランスフェクタントに接触させる。次いで、該形質転換細胞におけるシグナル伝達を指標に、腸管組織において発現しているTLRの活性を測定する。該評価方法においては、該TLRの活性が、
5 該抽出物を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であると判定される。

また、本発明は、腸管免疫系を活性化する微生物のスクリーニング方法も提供する。該スクリーニング方法としては、上記評価方法を利用して、複数の被験微生物について、腸管免疫系を活性化するか否かを評価し、腸管免疫系を活性化すると評価された微生物を選択する。
10

上記評価方法またはスクリーニング方法によって得られた微生物は、免疫賦活化機能を有する微生物として、例えば、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防に使用できる。

15 腸管免疫系を活性化する微生物を使用することで、腸管免疫系を活性化する食品組成物を製造できる。本発明は、このような腸管免疫系を活性化する食品組成物の製造方法もまた提供する。本発明の食品組成物の製造方法においては、上記スクリーニング方法によって腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物と食品上許容される担体とを混合する。食品上許容される担体としては、
20 例えば安定化剤、保存剤、着色料、香料等が挙げられる。

本発明の食品組成物の好ましい態様としては、乳酸菌や酵母を含む食品、ドリンク等が挙げられる。乳酸菌や酵母を含む食品、ドリンクとしては、例えば乳製品が挙げられる。本発明の乳製品としては、発酵乳、チーズ、発酵食品（乳酸菌を含む食品、キムチ等）が挙げられる。これらは、当業者に周知の方法で製造できる。
25

このようにして製造された食品組成物は、免疫賦活化機能を有する食品組成物

- 19 -

(例えば機能性食品、健康食品、特定保健用食品等)として、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防に使用できる。

本発明者らは、TLRと腸管免疫との関連を初めて見出した。また、TLRは、自然免疫を担当する細胞(例えばマクロファージや樹状細胞等)に発現していることが知られている(Gordon S. Cell. 111 (2002) 927-930、Akira S. et al, Nature Immunology. 2 (2001) 675-680)。よって、本発明のTLRトランスフェクタントは、腸管免疫担当細胞のモデル細胞として、例えば上記本発明の方法に使用できる。また、該TLRトランスフェクタントは、本発明の方法に用いる他の成分とともに、本発明の方法用のキットとして利用することもできる。

10 本発明は、上記本発明の方法に利用できるTLRトランスフェクタント、該TLRトランスフェクタントを腸管免疫担当細胞のモデル細胞として使用する方法、該腸管免疫担当細胞のモデル細胞の製造方法、および該製造方法によって製造されるモデル細胞もまた提供するものである。

15 図面の簡単な説明

図1は、ブタTLR9 cDNA塩基配列を示す図である。下線はシグナルペプチド領域を示す図である。

図2は、ブタTLR9 cDNA塩基配列を示す図である。図1の続きを示す。

図3は、ブタTLR9 cDNA塩基配列を示す図である。図2の続きを示す。

20 図4は、ブタTLR9 cDNA塩基配列を示す図である。図3の続きを示す。下線は膜貫通領域を示す図である。

図5は、ブタTLR9のSMARTによるドメイン解析を示す図である。

図6は、TLR9アミノ酸配列のアライメントを示す図である。

25 図7は、TLR9アミノ酸配列のアライメントを示す図である。図6の続きを示す図である。

図8は、TLR9アミノ酸配列のアライメントを示す図である。図7の続きを示す

- 20 -

図である。

図 9 は、TLR9 アミノ酸配列のアライメントを示す図である。図 9 の続きを示す図である。

図 10 は、トランスフェクタントにおけるブタTLR9のRT-PCR法による発現解析を示す写真である。

図 11 は、トランスフェクタントにおけるブタTLR9の発現とCpG DNAの取り込み解析を示す図である。a ; 抗FLAG抗体による解析を示す。b ; 抗ブタTLR9抗体による解析を示す。c ; CpG DNAの取り込み解析を示す。図中の矢印(1)はコントロール細胞のCpG1826および2006の取り込みを示し、矢印(2)はトランスフェクタントにおけるCpG1826を示し、矢印(3)はトランスフェクタントにおけるCpG2006を示す。

図 12 は、トランスフェクタントの共焦点レーザー顕微鏡による解析を示す写真である。a, b, c ; 対照細胞、d, e, f ; ブタTLR9トランスフェクタントを示す。a, d ; 抗FLAG抗体による解析を示す。b, e ; 抗ブタTLR9抗体による解析を示す。c, f ; CpG DNAの取り込み解析を示す。

図 13 は、real-time定量PCRによるブタTLR9の各種組織における発現解析を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を実施例により、さらに具体的に説明するが本発明はこれら実施例に制限されるものではない。

1) ブタ組織

フナコシ株式会社より購入した。

2) ブタTLR9遺伝子のクローニングと塩基配列決定

DDBJ/EMBL/GenBankにおいて公開されているヒトおよびマウスTLR9 (それぞれAccession Number AB045180およびAF348140) 遺伝子配列をもとに保存性の高い領域

- 21 -

を探索しプライマーを作製した。そのプライマーを用いてブタ腸管パイエル板由来total RNAからRT-PCR法によりブタTLR9遺伝子断片を得た。得られた遺伝子断片はpGEM-T-Easy vectorにライゲーションしE. coli JM109コンピテントセルにトランスフォーメーションしサブクローニングした。DNA配列はDNA sequencer Model
5 4000L(Li-Cor, Lincoln, NE, USA)により決定した。塩基配列、アミノ酸配列解析にはGENETYX-SV/RC Ver. 11.0.3.1を用いた。残りのブタTLR9遺伝子配列はブタTLR9遺伝子断片から設計したプライマーを用いてRACE法により得た。全TLR9遺伝子をPCR法により増幅しクローニングした。

3) ブタTLR9特異的ポリクローナル抗体の作製

10 GENETYX-SV/RC Ver. 11.0.3.1を用いた抗原決定基（エピトープ）解析とタンパク2次構造解析よりブタTLR9アミノ酸配列中より268から284番目の領域が高い抗原性を持つことを見出した。その領域のペプチド合成および合成ペプチドを抗原としたポリクローナル抗体作製をサワディテクノロジー株式会社に依頼した。

4) ブタTLR9遺伝子を導入したトランスフェクタントの構築

15 ブタTLR9遺伝子を導入する宿主細胞としては、ヒトの細胞系で遺伝子導入のホスト細胞として広く利用されているHEK293T細胞（ヒト胎児腎細胞）を選択した。ヒトTLR9特異的プライマーを用いてHEK293T細胞がTLR9遺伝子を発現していないことを解析し、シグナルペプチドを除くブタTLR9遺伝子をライゲーションしたpCKN2.1-FLAG 遺伝子発現ベクター（H. Niwa et al, Gene, 108 (1991) 193-199）（大
20 阪大学大学院医学研究科宮崎純一氏より分譲）をリポフェクション法によりHEK293T細胞にトランスフェクションした。抗生物質にはG418ネオマイシン（SIGMA）を用い、BECKMAN COULTER社のEPICSセルソーターシステムによりブタTLR9発現細胞をセレクションした。

5) RT-PCR法によるトランスフェクタントにおけるブタTLR9発現解析

25 トランスフェクタントよりTRIzol（インビトロジェン）を用いてtotal RNAを抽出し、ブタTLR9特異的プライマー（本発明で設計）、ヒトTLR9特異的プライマー

- 22 -

およびポジティブコントロールとしてヒトGAPDHプライマー(K. A. Zarembek, P. J. Godowski, J. Immunology, 168 (2002) 554-561)を用いてRT-PCR法によるTLR 9 mRNA遺伝子発現解析を行った。

6) フローサイトメトリー法および共焦点レーザー顕微鏡によるブタTLR9のトランスフェクタントにおける発現解析

細胞を1次抗体としてanti-FLAG mouse IgGモノクローナル抗体 (SIGMA) で4℃、1時間処理後、2次抗体としてanti-mouse IgG-PerCP 標識抗体で4℃、30分間染色した。核染色はPropidium iodideを4℃、10分間処理で行った。解析にはFACSCaliburTM (日本BECTON DICKINSON株式会社)を用いた。ブタTLR9ポリクローナル抗体による免疫染色は、上記のように1次抗体染色後、2次抗体として、anti-rabbit IgG-Alexa 488標識抗体で4℃、30分間染色し、核染色後解析した。また、細胞をI型コラーゲンコートDisk (IWAKI)に播き1次抗体としてanti-FLAG mouse IgGビオチン標識抗体 (SIGMA) で4℃、1時間処理後、2次抗体としてstreptavidin-PE-Cy5抗体で4℃、30分間染色した。核染色にはPropidium iodide 4℃、10分間処理した。解析には共焦点レーザー顕微鏡 (BIO-RAD社)を用いた。

7) トランスフェクタントを用いたCpG DNA取り込みの解析

CpG DNAは、既に報告のあるヒト免疫細胞を強く刺激する大腸菌ゲノムDNA由来CpG2006型 (5' -TCGTCGTTTGTGCGTTTGTGCGTT-3' (配列番号: 9)) とマウス免疫細胞を強く刺激するCpG1826型 (5' -TCCATGACGTTCC TGACGTT-3' (配列番号: 10)) (S. Pichyangkul et al, J. Immunological Methods, 247 (2001) 83-94)を用い、1Mの濃度のCpG DNAで、37℃にて1時間反応後、FACSCaliburTMおよび共焦点レーザー顕微鏡を用いて解析を行なった。

8) ブタ各種組織におけるTLR9のreal-time PCR法による発現解析

ブタ各種組織 (心臓、胸腺、肺臓、脾臓、肝臓、腎臓、骨格筋、十二指腸、空腸、回腸、回腸由来パイエル板、回腸由来腸管膜リンパ節) よりtotal RNAを抽出し、total RNA 1 μgからoligo-d(T)₁₈プライマーを用いてcDNAを合成後精製した。

- 23 -

ブタTLR9特異的プライマーおよび精製cDNAからLightCycler (Roche)を用いて real-time quantitative PCRに供した。リアクションキットとしてLight Cycler-Fast Start DNA Master SYBR Green (Roche)を用いた。検量線から求めたブタTLR9遺伝子量とハウスキーピング遺伝子である β アクチン遺伝子量との比から、ブタTLR
5 9 mRNA量を算出した。結果は、脾臓中のTLR9発現量を1.000とした場合の各種組織に含まれるブタTLR9 mRNA量を数値化し比較した。

本発明で用いたプライマーの塩基配列情報を表1にまとめた。

- 24 -

表 1

| sTLR9遺伝子クローニングプライマー | フォワードプライマー | 配列番号 | リバースプライマー | 配列番号 |
|----------------------------|-----------------------|------|------------------------|------|
| sTLR9(2775-3145) | AGACTGGTTACCTGGCAAGA | 11 | GCTATTCDCDGTGGAC | 12 |
| sTLR9(2301-2775) | CAACCTGAAAGTCTAGACG | 13 | GGCAGAAAGTTCGGTTATAG | 14 |
| sTLR9(1708-2347) | AGCTACAAACAGCCAGCCCTT | 15 | AGGCGCAGTGCAGAGGGTT | 16 |
| sTLR9(1057-1727) | CTGCGCAAGCTCAACCTGT | 17 | AAGGGCTGGCTGTTGTAGCT | 18 |
| sTLR9(140-1089) | CTGCCCTTCCTACCCCTGTGA | 19 | GTGGTAATTGAAGGACAGGTT | 20 |
| sTLR9(5'RACE, cDNA合成) | | | GCAGTTCACCTTGAGGTT GA | 21 |
| sTLR9(5'RACE, 1次ネステッド PCR) | | | ACGAAAGTCAGAGTCGTGCAA | 22 |
| sTLR9(5'RACE, 2次ネステッド PCR) | | | AGGAAGAGGCCAGTTGCAGTT | 23 |
| mRNA 発現解析プライマー | フォワードプライマー | 配列番号 | リバースプライマー | 配列番号 |
| ブタ TLR9 | CTGAAAGTCTAGACGTGAG | 24 | TCTTGCCAGGTAACCACTCT | 25 |
| ヒト TLR9 | GGACCTCTGGTACTGCTTCCA | 26 | AAGCTCGTTGTACACCCAGTCT | 27 |
| ヒト GAPDH | GAAGGTGAAGTCCGGAGTC | 28 | GAAGATGGTGTATGGGATTTC | 29 |
| sTLR9リアルタイムRT-PCR | GTGGAACTGTTTGGCATC | 30 | CACAGCACTCTGAGCTTTGT | 31 |
| sβ-アクトニンリアルタイムRT-PCR | TGGCATTGTCATGGACTCTG | 32 | AGGGCGGATGATCTTGATCT | 33 |

- 25 -

[実施例 1] ブタTLR9遺伝子配列の決定と他種TLR9との相同性

本発明により決定したブタTLR9 cDNA塩基配列は3090塩基の構造遺伝子 (ORF) を含む3145塩基 (5' 側に54塩基の非転写領域を含む) であった。ORFは1029残基のアミノ酸をコードしており、分子量は115.8kDaであった (図1～4)。多種TLR 9に対するアライメントを図6～9に示した。ブタTLR9アミノ酸配列とヒト、マウス、ネコTLR9に対してそれぞれ82.0%、74.9%および86.6%の相同性が認められた (表2)。

表 2

| 10 | TLR9 | 塩基配列 ^a | アミノ酸配列 ^a |
|----|------|-------------------|---------------------|
| | | 相同性 (%) | 相同性 (%) |
| 15 | ヒト | 84.9 | 82.0 |
| | マウス | 78.2 | 74.9 |
| | ネコ | 86.6 | 86.6 |

aヒト、マウスおよびネコTLR9の配列情報は、DDBJより以下のaccession No. (それぞれAB045180、AF348140およびAY137581) で入手した。

[実施例 2] ブタTLR9トランスフェクタントの発現解析

20 コントロール細胞とトランスフェクタント由来total RNAを鋳型としたブタTLR9 mRNAとヒトTLR9 mRNAのRT-PCR発現解析によりトランスフェクタントにおけるブタTLR9 mRNAの強い発現が認められた。また、両者ともにヒトTLR9 mRNAの発現は認められなかった (図10)。

25 フローサイトメトリーによる発現解析から、1次抗体として抗-FLAG抗体を用いた場合、コントロール細胞と比較してポジティブ側への大きなシフトがみられた (図11-a)。またブタTLR9抗体を用いた場合もポジティブ側へのシフトがみら

- 26 -

れた（図11-b）。レーザー顕微鏡による解析からも同様に発現が確認された（図12-a、c、b、d）。

〔実施例3〕 CpG DNA取り込み解析

共焦点レーザー顕微鏡による解析ではCpG DNAの違いによる取り込みの顕著な差は判断できなかったが、フローサイトメトリーによるCpG DNAの取り込み解析によりブタTLR9はマウス型CpG 1826よりもヒト型CpG2006を比較的多く取り込んでいることが明らかとなった（図11-c、12-e、f）。

〔実施例4〕 各種組織におけるブタTLR9 mRNAの発現解析

real-time PCR法による各種組織におけるブタTLR9 mRNAの発現解析の結果、ブタTLR9は、腸管リンパ系組織において、特にパイエル板と腸管膜リンパ節において強く発現していることが明らかとなった（図13）。

本実施例によりブタTLR9はマウスに比べヒトやネコTLR9と高い相同性を示すことが明らかとなった。また、real-time PCRによる発現解析から、これまでTLR9は脾臓において強い発現が認められるという報告がされていたが、経口的に病原細菌に曝される可能性が最も高い腸管粘膜系の内、腸管免疫の中心的な役割を果たすパイエル板や腸管膜リンパ節において、脾臓の約3倍以上のmRNA発現が認められた点は大変興味深い新知見である。また、本実施例はブタTLR9トランスフェクタントを構築することに成功し、本トランスフェクタントを用いたCpG DNAの取り込み解析から、ブタTLR9がマウス型に比べてヒト型CpG DNAに対する反応性が高かったことから、今後、このトランスフェクタントを用いた機能性乳酸菌DNAの認識性の解析が飛躍的に進み、ブタを実験動物としたヒトへのモデル系の計画的解析を通して、機能性食品開発の基礎研究が分子間の反応としてより詳細に検討できる。

TLR9により認識される細菌DNAはマクロファージや樹状細胞等を刺激し、サイトカイン等のシグナル分子の産生を促すことが知られている（M. Bauer et al, J. Immunol. 166 (2001) 5000-5007）。本実施例の成果は細菌DNAによる刺激とTLR9による認識およびシグナル伝達システムを応用したワクチンの開発につながるもの

- 27 -

であり(R. L. Modlin, Nature 408 (2000) 659-660)、感染を抑制するだけの低い免疫応答から、細菌を殺す有効性の高い応答へと切り換えることができるため、結核等の感染症の治療、さらには癌、アレルギー等への幅広い応用が期待できる。最近、腸管まで届く生きた抗原運搬役として乳酸菌が注目を浴びているが、それ

5 に加えて乳酸菌由来DNAもまた免疫賦活化能があることが本発明者らの研究で明らかになったことから乳酸菌に対する期待が大いに高まっている。本発明でTLR9がパイエル板および腸管膜リンパ節で強い発現が認められたことから、TLR9が腸管免疫系において重要な役割を担っていることが強く示唆され、腸管に存在する乳酸菌や食餌性の乳業用乳酸菌のDNAがTLR9を刺激し、免疫を活性化する可能性が考

10 えられる。それゆえ、乳酸菌DNAのTLR9を介した腸管免疫系を明らかにすることは、腸管常在乳酸菌や乳業用乳酸菌を用いたDNAワクチンの開発に向けた解決すべき課題である。

また、パイエル板および腸管膜リンパ節におけるTLR9の強い発現は、これら腸管免疫における自然免疫系の顕著な発達を意味しているかもしれない。近年、医

15 学、免疫学の分野において腸管免疫系が極めて重要な領域として注目を集めるようになってきた。比較的新しい研究分野であるため基本的な免疫機構についての知見が少なく、その機構解明が大いに期待されている。

本発明で得られた知見は、今後腸管におけるTLR9を介したシグナル伝達経路についてその認識メカニズムを分子レベルで明らかにするための糸口となり、自然免

20 疫という基本的な免疫システムがより発展的に解明されるための原動力ともなる。

産業上の利用の可能性

本発明においてTLRトランスフェクタントの利用法が提供された。TLRトランスフェクタントは、腸管免疫担当細胞のモデル細胞として利用できる。また、TLRト

25 ランスフェクタントを利用することで、腸管免疫系を活性化する試料および微生物を同定でき、腸管免疫系を活性化する医薬組成物および食品組成物を製造でき

- 28 -

る。該試料、微生物、医薬組成物、および食品組成物は、例えば、アレルギー、癌、感染症等の治療または予防に使用できる。

- 29 -

請求の範囲

1. 被験試料が腸管免疫系を活性化するか否かを評価する方法であって、
 - (a) 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞に、被験試料を接触させる工程
 - (b) 該細胞におけるシグナル伝達を指標に、該Toll様レセプターの活性を測定する工程を含み、上記Toll様レセプターの活性が、上記被験試料を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験試料が腸管免疫系を活性化すると判定される方法。
2. 以下の(a)および(b)の工程を含む、腸管免疫系を活性化する試料のスクリーニング方法。
 - (a) 請求項1に記載の評価方法により、複数の被験試料について、腸管免疫系を活性化するか否かを評価する工程
 - (b) 複数の被験試料から、腸管免疫系を活性化すると評価された試料を選択する工程
3. 請求項2に記載の工程に、さらに腸管免疫系を活性化すると評価された試料と医薬上許容される担体とを混合する工程を含む、腸管免疫系を活性化する医薬組成物の製造方法。
4. 被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを評価する方法であって、
 - (a) 被験微生物から抽出物を調製する工程
 - (b) 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞に、該抽出物を接触させる工程
 - (c) 該細胞におけるシグナル伝達を指標に、該Toll様レセプターの活性を測定する工程

- 30 -

を含み、上記Toll様レセプターの活性が、上記抽出物を接触させないときに比べ上昇する場合に、被験微生物が腸管免疫系を活性化する微生物であると判定される方法。

- 5 5. 以下の（a）および（b）の工程を含む、腸管免疫系を活性化する微生物のスクリーニング方法。

（a）請求項4に記載の評価方法により、複数の被験微生物について、腸管免疫系を活性化する微生物であるか否かを評価する工程

（b）複数の被験微生物から、腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物を選択する工程

- 10 6. 請求項5に記載の工程に、さらに腸管免疫系を活性化する微生物であると評価された微生物と食品上許容される担体とを混合する工程を含む、腸管免疫系を活性化する食品組成物の製造方法。

7. 微生物が乳酸菌であり、食品組成物が乳製品である、請求項6に記載の方法。

8. 微生物が細菌である、請求項4～6のいずれかに記載の方法。

- 15 9. 細菌が乳酸菌である、請求項8に記載の方法。

10. 腸管組織において発現しているToll様レセプターをコードするDNAを有する発現ベクターを細胞に導入する工程を含む、腸管免疫担当細胞のモデル細胞の製造方法。

- 20 11. 腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞を、腸管免疫担当細胞のモデル細胞として使用する方法。

12. 腸管組織が腸管リンパ系組織である、請求項1～11のいずれかに記載の方法。

13. 腸管リンパ系組織がパイエル板または腸管リンパ節である、請求項12に記載の方法。

- 25 14. Toll様レセプターがブタ由来である、請求項1～13のいずれかに記載の方法。

- 31 -

15. Toll様レセプターがToll様レセプター9である、請求項1～13のいずれかに記載の方法。
16. 請求項1～9のいずれかに記載の方法に用いるための、腸管組織において発現しているToll様レセプターを強制発現させた細胞。
- 5 17. 腸管組織において発現しているToll様レセプターをコードするDNAを有する発現ベクターを細胞に導入することで製造される、腸管免疫担当細胞のモデル細胞。
18. 腸管組織が腸管リンパ系組織である、請求項16または17に記載の細胞。
19. 腸管リンパ系組織がパイエル板または腸管リンパ節である、請求項18に
- 10 記載の細胞。
20. Toll様レセプターがブタ由来である、請求項16～19のいずれかに記載の細胞。
21. Toll様レセプターがToll様レセプター9である、請求項16～19のいずれかに記載の細胞。

1 / 13

図 1

-54 AGCTGCGGCCCGGTCTGCCAGCCAGACCCCTTTGGAGAAGACCCCACTCCCTGTC
1 ATGGGCCCCCGCTGCACCCTGCACCCCTTTCTCTCCTGGTGCAGGTGACAGCGCTGGCT 60
M G P R C T L H P L S L L V Q V T A L A
61 GCGACTCTGGCCCAGGGCAGGCTGCCTGCCTTCCTGOCCTGTGAGCTCCAGCCCCACGGC 120
A T L A Q G R L P A F L P C E L Q P H G
121 CTGGTGAAGTCAACTGGCTCTTCCTGAAGTCCGTGCCCACTTCTCGGCGGCAGCGCCC 180
L V N C N W L F L K S V P H F S A A A P
181 CGGGCCAACGTCACCAGCCTCTCCTTACTCTCCAACCGCATCCACCCTTGCAAGACTCT 240
R A N V T S L S L L S N R I H H L H D S
241 GACTTCGTCCACCTGTCCAGCCTACGAAGTCTCAACCTCAAGTGAAGTGGCCGCGGGCT 300
D F V H L S S L R T L N L K W N C P P A
301 GGCCTCAGCCCCATGCACTTCCCCTGCCACATGACCATCGAGCCCAACACCTTCTGGCC 360
G L S P M H F P C H M T I E P N T F L A
361 GTGCCCCACCCTGGAGGAGCTGAACCTGAGCTACAACAGCATCACGACCGTGCCTGOCCTG 420
V P T L E E L N L S Y N S I T T V P A L
421 OCGACTCCCTCGTGTCCCTGTGCTGAGCGCACCAACATCCTGGTGTAGACCCACACC 480
P D S L V S L S L S R T N I L V L D P T
481 CACCTCACTGGCCTACATGCCTGCGCTACCTGTACATGGATGGCAACTGCTACTACAAG 540
H L T G L H A L R Y L Y M D G N C Y Y K
541 AACCCCTGCCAGGGGGCGCTGGAGGTGGTGOCGGGTGCCCTCCTCGGCCTGGGCAACCTC 600
N P C Q G A L E V V P G A L L G L G N L
601 ACACATCTCTCACTCAAGTACAACAATCTCACGGAGGTGCCCCGCAGCCTGCCCCCAGC 660
T H L S L K Y N N L T E V P R S L P P S
661 CTGGAGACCCTGCTGTTGTCTTACAACCACATTGTCACCCTGACGCTGAGGACCTGGCC 720
L E T L L L S Y N H I V T L T P E D L A
721 AATCTGACTGOCCTGCGCGTGCTTGATGTGGGGGGGAAGTGGCGCGCTGTGACCATGCC 780
N L T A L R V L D V G G N C R R C D H A

2/13

図 2

| | | |
|------|---|------|
| 781 | OGCAACCCCTGCAGGGAGTGCCCAAAGGACCACCCCAAGCTGCACTCTGACACCTTCAGC | 840 |
| | R N P C R E C P K D H P K L H S D T F S | |
| 841 | CACCTGAGCCGCCTCGAAGGCTGGTGTGAAAGACAGTTCTCTCTACAACCTGGACGCC | 900 |
| | H L S R L E G L V L K D S S L Y N L D A | |
| 901 | AGGTGGTTCGGAGGCCTGGACAGGCTCCAAGTGCTGGACCTGAGTGAGAACTTCCTCTAC | 960 |
| | R W F R G L D R L Q V L D L S E N F L Y | |
| 961 | GACTGCATCACCAAGACCACGGCCTTCCAGGGCCTGGCCCGACTgCGcAAGCTCAACCTG | 1020 |
| | D C I T K T T A F Q G L A R L R K L N L | |
| 1021 | TCCTTCAATTACCACAAGAAGGTGTCTTTGCCACCTGCACCTGGCACCTTCCTTTGGG | 1080 |
| | S F N Y H K K V S F A H L H L A P S F G | |
| 1081 | CACCTCCGGTCCCTGAAGGAGCTGGACATGCATGGCATCTTCTTCGGCTCGCTCAGTGAG | 1140 |
| | H L R S L K E L D M H G I F F R S L S E | |
| 1141 | ACCAOGCTCCAACCTCTGGTCCAAGTGCCTATGCTCCAGACCCCTGGCCCTGCAGATGAAC | 1200 |
| | T T L Q P L V Q L P M L Q T L R L Q M N | |
| 1201 | TTCAATTAACCAGGCCAGCTCAGCATCTTTGGGGCCTTCCTGGCCTGCTGTACGTGGAC | 1260 |
| | F I N Q A Q L S I F G A F P G L L Y V D | |
| 1261 | CTATCGGACAACCGCATCAGCGGAGCTGCAAGGCCAGTGGcCATTACTAGGGAGGTGGAT | 1320 |
| | L S D N R I S G A A R P V A I T R E V D | |
| 1321 | GGTAGGGAGAGGGTCTGGCTGCTTCCAGGAACCTCGCTCCACGTCCACTGGACACTCTC | 1380 |
| | G R E R V W L P S R N L A P R P L D T L | |
| 1381 | CGCTCAGAGGACTTCAIGCCAACTGCAAGGCCTTCAGCTTCACCTTGGACCTGTCTCGG | 1440 |
| | R S E D F M P N C K A F S F T L D L S R | |
| 1441 | AACAACCTGGTGACAATCCAGTCCGAGATGTTTGCTCGCTCTCAOGCCTOGAGTGCTG | 1500 |
| | N N L V T I Q S E M F A R L S R L E C L | |
| 1501 | OGTCTGAGCCACAACAGCATCTCCCAGGCGGTCAATGGCTCTCAGTTTGTGCCGCTGACC | 1560 |
| | R L S H N S I S Q A V N G S Q F V P L T | |

3 / 13

図 3

| | | |
|------|---|------|
| 1561 | AGCCTGCGGGTGCTGGACCTGTCCACAACAAGCTGGACCTGTATCACGGGCGCTCGTTC | 1620 |
| | S L R V L D L S H N K L D L Y H G R S F | |
| 1621 | ACGGAGCTGCCGCGCTGGAAGCACTGGACCTCAGCTACAACAGCCAGCCCTTTACCATG | 1680 |
| | T E L P R L E A L D L S Y N S Q P F T M | |
| 1681 | CAGGGTGTGGGCCACAACCTCAGCTTCGTGGCCAGCTGCCGCGCTGCGCTACCTCAGC | 1740 |
| | Q G V G H N L S F V A Q L P A L R Y L S | |
| 1741 | CTGGCGCACAATGACATCCATAGCCGAGTGTCCAGCAGCTCTGTAGCGCCTCACTGTGC | 1800 |
| | L A H N D I H S R V S Q Q L C S A S L C | |
| 1801 | GCCCTGGACTTTAGCGGCAACGATCTGAGCCGGATGTGGGCTGAGGGAGACCTCTATCTC | 1860 |
| | A L D F S G N D L S R M W A E G D L Y L | |
| 1861 | CGCTTCTTCCAAGGCCTAAGAAGCCTAGTCTGGCTGGACCTGTCCCAGAACCACTGCAC | 1920 |
| | R F F Q G L R S L V W L D L S Q N H L H | |
| 1921 | ACCCTCCTGCCACGTGCCCTGGACAACCTCCCAAAAGCCTGAAGCATCTGCATCTCCGT | 1980 |
| | T L L P R A L D N L P K S L K H L H L R | |
| 1981 | GACAATAACCTGGCCTTCTTCAACTGGAGCAGCCTGACCTCCTGCCCAAGCTGGAAACC | 2040 |
| | D N N L A F F N W S S L T L L P K L E T | |
| 2041 | CTGGACTTGGCTGGAAACCAGCTGAAGGCCCTAAGCAATGGCAGCCTGCCATCTGGCAACC | 2100 |
| | L D L A G N Q L K A L S N G S L P S G T | |
| 2101 | CAGCTGGGAGGCTGGACCTCAGTGGCAACAGCATCGGCTTTGTGAACCTGGCTTCTTT | 2160 |
| | Q L R R L D L S G N S I G F V N P G F F | |
| 2161 | GCCCTGGCCAAGCAGTTAGAAGAGCTCAACCTCAGCGCCAATGCCCTCAAGACAGTGGAG | 2220 |
| | A L A K Q L E E L N L S A N A L K T V E | |
| 2221 | CCCTCCTGGTTTGGCTCGATGGTGGGCAACCTGAAAGTCCTAGACGTGAGCGCCAACCT | 2280 |
| | P S W F G S M V G N L K V L D V S A N P | |
| 2281 | CTGCACTGCGCCTGTGGGGCGACCTTOGTGGGCTTCCTGCTGGAGGTACAGGCTGCCGTG | 2340 |
| | L H C A C G A T F V G F L L E V Q A A V | |

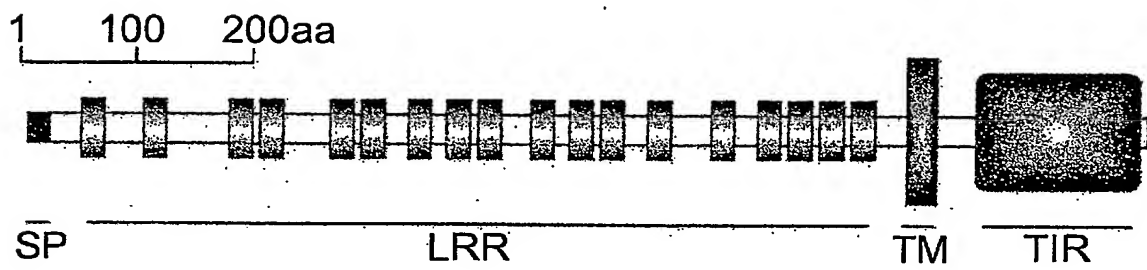
4/13

図 4

2341 CCTGGGCTGCCCAGCCGGTCAAGTGTGGCAGTCCGGGCGAGCTCCAGGGCCATAGCATC 2400
P G L P S R V K C G S P G Q L Q G H S I
2401 TTTGCGCAAGACCTGCGCCTCTGCGCTGGATGAGACCCTCTCGTGGAAGTGTTTTGGCATC 2460
F A Q D L R L C L D E T L S W N C F G I
2461 TCGCTGCTGGCCATGGGCTGGGCTGGTTGTGCCATGCTGCACCACCTCTGCGGCTGG 2520
S L L A M A L G L V V P M L H H L C G W
2521 GACCTCTGGTACTGCTTCCACCTGTGCGCTGGGCTGCCCCACCGAGGGCAGCGGCGG 2580
D L W Y C F H L C L A W L P H R G Q R R
2581 GCGCAGACGCGCTGTTCTATGATGCGCTTCGTGGTCTTTGACAAAGCTCAGAGTGTGTG 2640
G A D A L F Y D A F V V F D K A Q S A V
2641 GCGACTGGGTGTACAACGAGCTGCGGGTGAGCTGGAGGAGCGCGCTGGGCGCGCGCA 2700
A D W V Y N E L R V Q L E E R R G R R A
2701 CTGCGCTGTGCGTGGAGGAGCGAGACTGGTTACCTGGCAAGACGCTCTTCGAGAACCTG 2760
L R L C L E E R D W L P G K T L F E N L
2761 TGGGCTCAGTCTACAGCAGCGCAAGACCCTGTTTGTGCTGGCCACACGGACCGTGTG 2820
W A S V Y S S R K T L F V L A H T D R V
2821 AGCGGCTCTTGCGTGCCAGTTTCTGCTGGGCCAGCAGCGCTGCTGGAGGACCGCAAG 2880
S G L L R A S F L L A Q Q R L L E D R K
2881 GACGTTGTAGTGTGCTGGTGATCCTGCGCCCGATGCCTACCGCTCCCGCTACGTGCGGCTG 2940
D V V V L V I L R P D A Y R S R Y V R L
2941 CGCCAGCGCCTCTGCCGCCAGAGTGTCTCTCTGGGCCACCAGCCCGTGGGCAGGGC 3000
R Q R L C R Q S V L L W P H Q P R G Q G
3001 AGCTTCTGGGCCAGCTGGGCACAGCGCTGACAGGGACAACCGCCACTTCTATAACCGG 3060
S F W A Q L G T A L T R D N R H F Y N R
3061 AACTTCTGCCGGGGCCCCACGACAGCGAATAG 3093
N F C R G P T T A E *

5 / 13

図 5



6 / 13

図 6

| | | | | |
|--|-----|---|-----|------|
| ブタ | 1 | MCPRCT--LHPLSLVQVTAALTAQGRPAFLPCELOPHGLVNCNWLFKSVPHFSAA | 58 | ブタ |
| ヒト | 1 | MCF-CRSALHPLSLVQAIMLAMILALGITPAFLPCELOPHGLVNCNWLFKSVPHFSMA | 59 | ヒト |
| マウス | 1 | MVLRRT-LHPLSLVQAAVLAETLALGITPAFLPCELOPHGLVDCNWLFKSVPHFSAA | 59 | マウス |
| イエネコ | 1 | MCF-CHGALHPLSLVQAAALAVALAQGITPAFLPCELOPHGLVNCNWLFKSVPHFSAA | 59 | イエネコ |
| * . . . ***** . ** . ** * . ***** . **** * . ***** . ** * | | | | |
| ブタ | 59 | APRANVTSLSLLSNRIHHLHDSDFVHLSLRTINLKWNCPPAGLSPMHFPCHMTIEPNIF | 118 | ブタ |
| ヒト | 60 | APRGVTSLSLSSNRIHHLHDSDFAHLSLRLHNLKWNCPPVGLSPMHFPCHMTIEPSTF | 119 | ヒト |
| マウス | 60 | ASCSNITRLSLISNRIHHLHNSDFVHLSNLRLQNLKWNCPPITGLSPLHFSCHMTIEPRTF | 119 | マウス |
| イエネコ | 60 | APRGVTSLSLYSNRIHHLHDSDFVHLSLRRNLKWNCPPASLSPMHFPCHMTIEPHIF | 119 | イエネコ |
| * . . . ** . *** ***** . **** . ** . ** ***** . **** . ** . ***** ** | | | | |
| ブタ | 119 | LAVPTLEEINLSYNSITTVPALPDSLSLSLRTINLVLDPTHLTGLHALRYLYMDGNCY | 178 | ブタ |
| ヒト | 120 | LAVPTLEEINLSYNNIMTVPALPKSLISLSLSTINILMDSASLAGLHALRFLFMDGNCY | 179 | ヒト |
| マウス | 120 | LAMPTLEEINLSYNGITTVPRLPSSLVNLSLSTINILVDANSIAGLYSLRVLFMDGNCY | 179 | マウス |
| イエネコ | 120 | LAVPTLEEINLSYNSITTVPALPSSLSLSLRTINLVLDPANLAGLHSLRFLFMDGNCY | 179 | イエネコ |
| ** . . ***** * . *** . ** . ** . ***** . ** . * . ** . ** . ***** | | | | |
| ブタ | 179 | YKNPCQGALEVVPGALLGLGNLTHLSLKYNLTVPRSLPPSLETLLLSYNHIVITLPED | 238 | ブタ |
| ヒト | 180 | YKNPCQGALEVAPGALLGLGNLTHLSLKYNLTVPRNLPPSLEYLLLSYNRIVKLAPED | 239 | ヒト |
| マウス | 180 | YKNPCTGAVKVTPGALLGLGNLTHLSLKYNLTKVPRQLPPSLEYLLVSYNLIVKLGPED | 239 | マウス |
| イエネコ | 180 | YKNPCQALQVAPGALLGLGNLTHLSLKYNLTVPRGLPPSLEYLLLSYNHIIITLAPED | 239 | イエネコ |
| ***** * . * ***** . ***** ***** *** ** . **** . ** . *** * . * *** | | | | |
| ブタ | 239 | LANLTALRVLDVGGNCRRCDHARNPCRECPKDHPLHSDTFSHLSRLEGLVLKDSLSYNL | 298 | ブタ |
| ヒト | 240 | LANLTALRVLDVGGNCRRCDHAFNPQMECPRHFPQLHPDTFSHLSRLEGLVLKDSLSWL | 299 | ヒト |
| マウス | 240 | LANLTSLRVLDVGGNCRRCDHAFNPCTECGQKSLHLPETFHLSHLEGLVLKDSLSLHTL | 299 | マウス |
| イエネコ | 240 | LANLTALRVLDVGGNCRRCDHARNPQMECPKGFPHLPDTFSHLNHLEGLVLKDSLSYNL | 299 | イエネコ |
| ***** . ***** ***** *** ** . . ** . ** . ***** * | | | | |

```

ブタ 299 DARWFRGLDRLQVLDLSENFLYDCITKTTAFQGLARLRKINLSFNHYHKVVSFAHLHLAPS 358
ヒト 300 NASWFRGLGNLRVLDLSENFLYKCITKTKAFQGLTQLRKINLSFNHYKRVVSFAHLHLAPS 359
マウス 300 NSSWFQGLVNLVLDLSENFYESINHINAFQNLTRLRKINLSFNHYRKKVVSFARLHLASS 359
イエネコ 300 NPRWFHALGNLMVLDLSENFLYDCITKTTAFQGLAQLRRINLSFNHYHKVVSFAHLHLAPS 359
. ** . * ***** . . . * ** . * ** . ***** * . ***** . * . * .
ブタ 359 FGHLRSLKELDMHGIFFRSLSETTLQPLVOLPMLQTLRLQMFINQAQLSIFGAFPGLLY 418
ヒト 360 FGSLVALKELDMHGIFFRSLDETTLRPLARLPLQTLRLQMFINQAQLGIFRAFPGLRY 419
マウス 360 FKNLVSLOELNMGIFFRSLNKYTLRWLADLPKILHTLHLQMFINQAQLSIFGTFRALRF 419
イエネコ 360 FGSLLSQQLDMHGIFFRSLSETTLRSLVHLPMLQSLHLQMFINQAQLSIFGAFPGLRY 419
* . * . * . * . ***** . . . * ** . * ** . ***** . * . * . . .
ブタ 419 VDLSDNRISGAARPVAITREVDGR-ERVWLPSRNLAPRPLDTLRSEDFMPCNAFSFTILD 477
ヒト 420 VDLSDNRISCASELTATMGADGG-EKWVLPQGLAPAPVDTTPSSEDFRNCSTLNFTILD 478
マウス 420 VDLSDNRISGPSTLSEATPEEADDAEQEELLSADPHAPLSTPASKNFMDCRKNFKFTMD 479
イエネコ 420 VDLSDNRISGAMELAAATGEVDGG-ERVRLPSGDLALGPPGTPSSEGFMPGCKTLNFTILD 478
***** . . . * .. * . * . . . . * * . * . * . * . * . * . * . * . * .
ブタ 478 LSRNNLVTIQSEMFARLSRLECLRLSHNSISQAVNGSQFVPLTSLRVLDLSHNKLDLYHG 537
ヒト 479 LSRNNLVTVQPEMFAQLSHLQCLRLSHNCISQAVNGSQFLPLTGLQVLDLSRNKLDLYHE 538
マウス 480 LSRNNLVTIKPEMFVNLSRLQCLSLSHNSIAQAVNGSQFLPLTNLQVLDLSHNKLDLYHW 539
イエネコ 479 LSRNNLVTIQPEMFARLSRLQCLLSRNSISQAVNGSQFMPLTSLQVLDLSHNKLDLYHG 538
***** . . . *** . ** . * . * . * . * . ***** *** * . ***** *****

```

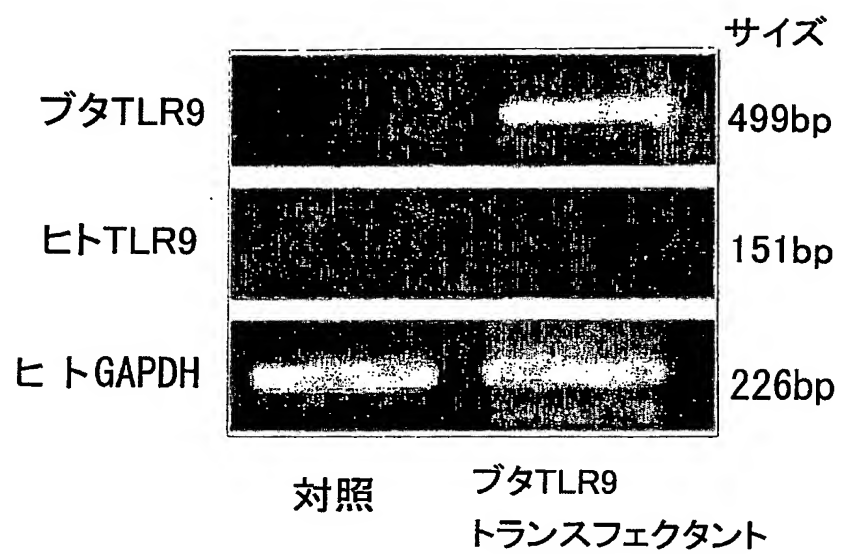
[illegible]

図 9

| | | | |
|--|------|--|------|
| ブタ | 838 | CGNDLWYCFHLCLAWLPHRGQRRGAD--ALFYDAFVVFDKAQSAVADWVYNELRVQLEER | 895 |
| ヒト | 839 | CGNDLWYCFHLCLAWLPWRGROSGRDEDALPYDAFVVFDKTQSAVADWVYNELRGQLEEC | 898 |
| マウス | 840 | CGNDVWYCFHLCLAWLPLLARSRSAQA-LPYDAFVVFDKAQSAVADWVYNELRVLEGR | 898 |
| イエネコ | 839 | CGNDLWYCFHLCLAWLPRRGRRRGAD--ALPYDAFVVFDKAQSAVADWVYNELRVLEER | 896 |
| ****,*****,*,*****,*****..**.. | | | |
| ブタ | 896 | RGRRALRLCLEERDWLPGKTLFENLWASVYSSRKTLFVLAHTDRVSGLLRASFLLAQORL | 955 |
| ヒト | 899 | RGWALRLCLEERDWLPGKTLFENLWASVYGSRKTLFVLAHTDRVSGLLRASFLLAQORL | 958 |
| マウス | 899 | RGRRALRLCLEERDWLPGQTLFENLWASVYGSRKTLFVLAHTDRVSGLLRTSFLLAQORL | 958 |
| イエネコ | 897 | RGRRALRLCLEERDWLPGKTLFENLWASVYSSRKMLFVLAHTDRVSGLLRASFLLAQORL | 956 |
| ***,*****,*****,*****,****,*****,***** | | | |
| ブタ | 956 | LEDKDVVVLVILRPDAYRSRYVRLRQRLCRQSVLLWPHQPRGQGSFWAQLGTALTRDNR | 1015 |
| ヒト | 959 | LEDKDVVVLVILSPDGRSRYVRLRQRLCRQSVLLWPHQSGQRSFWAQLGMALTRDNH | 1018 |
| マウス | 959 | LEDKDVVVLVILRPDAHRSRYVRLRQRLCRQSVLFWPQQPNQGGFWAQLSTALTRDNR | 1018 |
| イエネコ | 957 | LEDKDVVVLVILRPDAHRSRYVRLRQRLCRQSVLLWPHQSGQRSFWAQLGTALTRDNQ | 1016 |
| *****,**,*****,*** ** ** ..***** | | | |
| ブタ | 1016 | HFYNRNFCRGPTTAE | 1030 |
| ヒト | 1019 | HFYNRNFCQGP-TAE | 1032 |
| マウス | 1019 | HFYNQNFRCGP-TAE | 1032 |
| イエネコ | 1017 | HFYNQNFRCGPTTAE | 1031 |
| **** ** ** ** | | | |

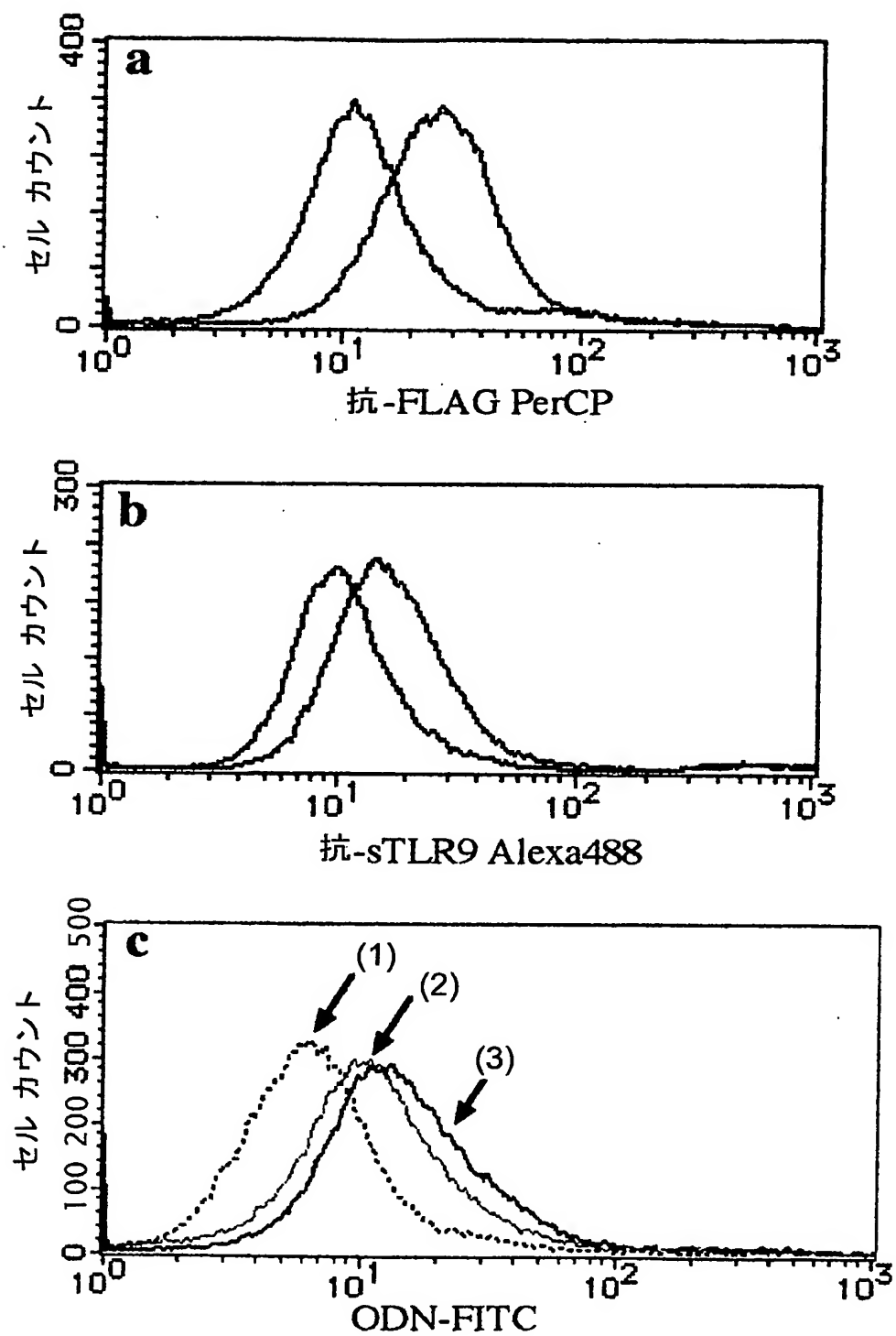
10/13

図 10



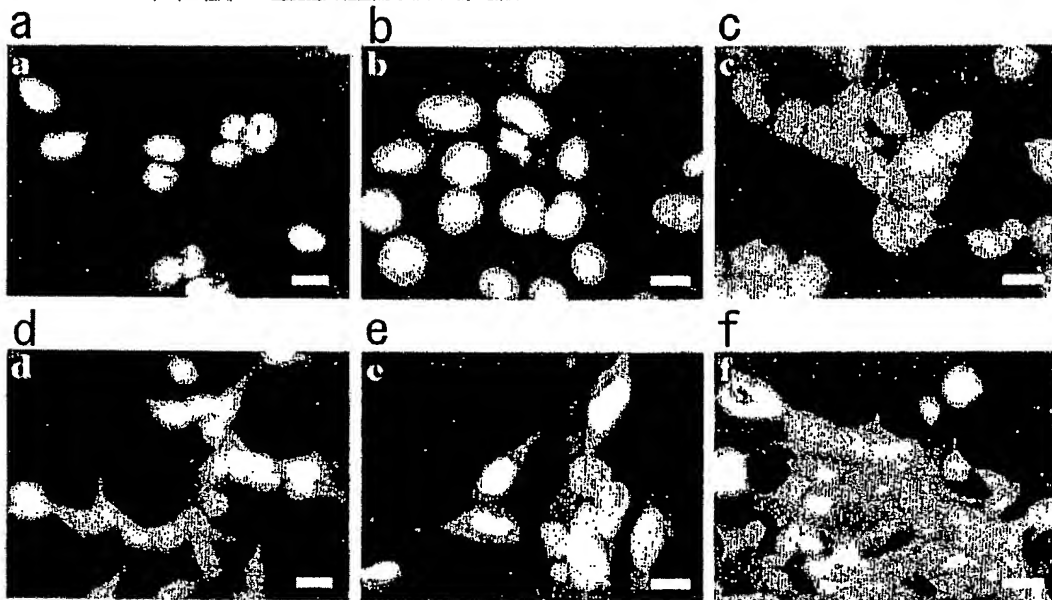
11/13

図 1 1



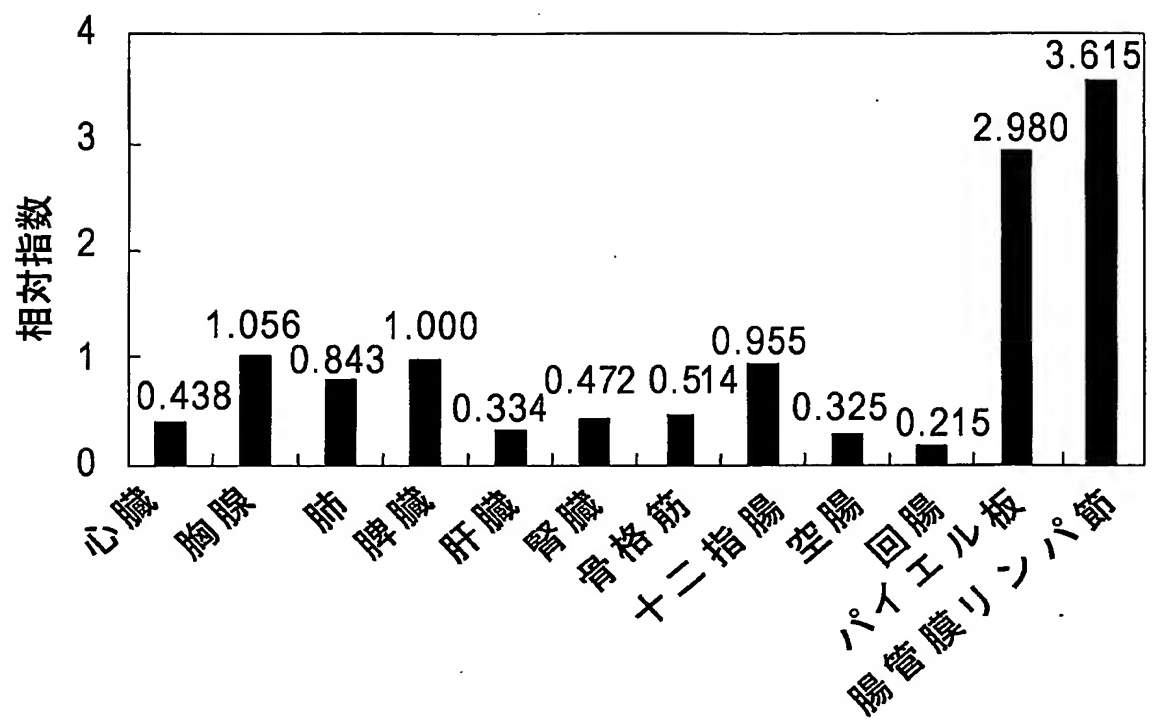
12 / 13

図 12



13 / 13

図 13



1 / 8 8

SEQUENCE LISTING

<110> Meiji Dairies Corporation

<120> The use of toll-like receptor transfectant

<130> M1-X0301P

<150> JP 2003-172132

<151> 2003-6-17

<160> 34

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 3329

<212> DNA

<213> Sus scrofa

<220>

<221> CDS

<222> (55).. (3147)

<223>

<400> 1

2 / 8 8

agctgcggcc cggctcgcca gccagaccct ttggagaaga cccactccc tgtc atg 57
Met
1

ggc ccc cgc tgc acc ctg cac ccc ctt tct ctc ctg gtg cag gtg aca 105
Gly Pro Arg Cys Thr Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Val Thr
5 10 15

gcg ctg gct gcg act ctg gcc cag ggc agg ctg cct gcc ttc ctg ccc 153
Ala Leu Ala Ala Thr Leu Ala Gln Gly Arg Leu Pro Ala Phe Leu Pro
20 25 30

tgt gag ctc cag ccc cac ggc ctg gtg aac tgc aac tgg ctc ttc ctg 201
Cys Glu Leu Gln Pro His Gly Leu Val Asn Cys Asn Trp Leu Phe Leu
35 40 45

aag tcc gtg ccc cac ttc tcg gcg gca gcg ccc cgg gcc aac gtc acc 249
Lys Ser Val Pro His Phe Ser Ala Ala Ala Pro Arg Ala Asn Val Thr
50 55 60 65

agc ctc tcc tta ctc tcc aac cgc atc cac cac ttg cac gac tct gac 297
Ser Leu Ser Leu Leu Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp Ser Asp
70 75 80

ttc gtc cac ctg tcc agc cta cga act ctc aac ctc aag tgg aac tgc 345
Phe Val His Leu Ser Ser Leu Arg Thr Leu Asn Leu Lys Trp Asn Cys

3 / 8 8

85

90

95

ccg ccg gct ggc ctc agc ccc atg cac ttc ccc tgc cac atg acc atc 393
Pro Pro Ala Gly Leu Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met Thr Ile
100 105 110

gag ccc aac acc ttc ctg gcc gtg ccc acc ctg gag gag ctg aac ctg 441
Glu Pro Asn Thr Phe Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu Asn Leu
115 120 125

agc tac aac agc atc acg acc gtg cct gcc ctg ccc gac tcc ctc gtg 489
Ser Tyr Asn Ser Ile Thr Thr Val Pro Ala Leu Pro Asp Ser Leu Val
130 135 140 145

tcc ctg tcg ctg agc cgc acc aac atc ctg gtg cta gac ccc acc cac 537
Ser Leu Ser Leu Ser Arg Thr Asn Ile Leu Val Leu Asp Pro Thr His
150 155 160

ctc act ggc cta cat gcc ctg cgc tac ctg tac atg gat ggc aac tgc 585
Leu Thr Gly Leu His Ala Leu Arg Tyr Leu Tyr Met Asp Gly Asn Cys
165 170 175

tac tac aag aac ccc tgc cag ggg gcg ctg gag gtg gtg ccg ggt gcc 633
Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Gln Gly Ala Leu Glu Val Val Pro Gly Ala
180 185 190

4 / 8 8

| | |
|--|-----|
| ctc ctc ggc ctg ggc aac ctc aca cat ctc tca ctc aag tac aac aat | 681 |
| Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn Asn | |
| 195 200 205 | |
| ctc acg gag gtg ccc cgc agc ctg ccc ccc agc ctg gag acc ctg ctg | 729 |
| Leu Thr Glu Val Pro Arg Ser Leu Pro Pro Ser Leu Glu Thr Leu Leu | |
| 210 215 220 225 | |
| ttg tcc tac aac cac att gtc acc ctg acg cct gag gac ctg gcc aat | 777 |
| Leu Ser Tyr Asn His Ile Val Thr Leu Thr Pro Glu Asp Leu Ala Asn | |
| 230 235 240 | |
| ctg act gcc ctg cgc gtg ctt gat gtg ggg ggg aac tgc cgc cgc tgt | 825 |
| Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg Cys | |
| 245 250 255 | |
| gac cat gcc cgc aac ccc tgc agg gag tgc cca aag gac cac ccc aag | 873 |
| Asp His Ala Arg Asn Pro Cys Arg Glu Cys Pro Lys Asp His Pro Lys | |
| 260 265 270 | |
| ctg cac tct gac acc ttc agc cac ctg agc cgc ctc gaa ggc ctg gtg | 921 |
| Leu His Ser Asp Thr Phe Ser His Leu Ser Arg Leu Glu Gly Leu Val | |
| 275 280 285 | |
| ttg aaa gac agt tct ctc tac aac ctg gac gcc agg tgg ttc cga ggc | 969 |
| Leu Lys Asp Ser Ser Leu Tyr Asn Leu Asp Ala Arg Trp Phe Arg Gly | |

5 / 8 8

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|------|
| 290 | 295 | 300 | 305 | |
| ctg gac agg ctc caa gtg ctg gac ctg agt gag aac ttc ctc tac gac | | | | 1017 |
| Leu Asp Arg Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr Asp | | | | |
| | 310 | 315 | 320 | |
| tgc atc acc aag acc acg gcc ttc cag ggc ctg gcc cga ctg cgc aag | | | | 1065 |
| Cys Ile Thr Lys Thr Thr Ala Phe Gln Gly Leu Ala Arg Leu Arg Lys | | | | |
| | 325 | 330 | 335 | |
| ctc aac ctg tcc ttc aat tac cac aag aag gtg tcc ttt gcc cac ctg | | | | 1113 |
| Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr His Lys Lys Val Ser Phe Ala His Leu | | | | |
| | 340 | 345 | 350 | |
| cac ctg gca ccc tcc ttt ggg cac ctc cgg tcc ctg aag gag ctg gac | | | | 1161 |
| His Leu Ala Pro Ser Phe Gly His Leu Arg Ser Leu Lys Glu Leu Asp | | | | |
| | 355 | 360 | 365 | |
| atg cat ggc atc ttc ttc cgc tcg ctc agt gag acc acg ctc caa cct | | | | 1209 |
| Met His Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Ser Glu Thr Thr Leu Gln Pro | | | | |
| 370 | 375 | 380 | 385 | |
| ctg gtc caa ctg cct atg ctc cag acc ctg cgc ctg cag atg aac ttc | | | | 1257 |
| Leu Val Gln Leu Pro Met Leu Gln Thr Leu Arg Leu Gln Met Asn Phe | | | | |
| | 390 | 395 | 400 | |

6 / 8 8

att aac cag gcc cag ctc agc atc ttt ggg gcc ttc cct ggc ctg ctg 1305
Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser Ile Phe Gly Ala Phe Pro Gly Leu Leu

405

410

415

tac gtg gac cta tcg gac aac cgc atc agc gga gct gca agg cca gtg 1353
Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Ala Arg Pro Val

420

425

430

gcc att act agg gag gtg gat ggt agg gag agg gtc tgg ctg cct tcc 1401
Ala Ile Thr Arg Glu Val Asp Gly Arg Glu Arg Val Trp Leu Pro Ser

435

440

445

agg aac ctc gct cca cgt cca ctg gac act ctc cgc tca gag gac ttc 1449
Arg Asn Leu Ala Pro Arg Pro Leu Asp Thr Leu Arg Ser Glu Asp Phe

450

455

460

465

atg cca aac tgc aag gcc ttc agc ttc acc ttg gac ctg tct cgg aac 1497
Met Pro Asn Cys Lys Ala Phe Ser Phe Thr Leu Asp Leu Ser Arg Asn

470

475

480

aac ctg gtg aca atc cag tcg gag atg ttt gct cgc ctc tca cgc ctc 1545
Asn Leu Val Thr Ile Gln Ser Glu Met Phe Ala Arg Leu Ser Arg Leu

485

490

495

gag tgc ctg cgt ctg agc cac aac agc atc tcc cag gcg gtc aat ggc 1593
Glu Cys Leu Arg Leu Ser His Asn Ser Ile Ser Gln Ala Val Asn Gly

7 / 8 8

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 500 | 505 | 510 | |
| tct cag ttt gtg ccg ctg acc agc ctg cgg gtg ctg gac ctg tcc cac | | | 1641 |
| Ser Gln Phe Val Pro Leu Thr Ser Leu Arg Val Leu Asp Leu Ser His | | | |
| 515 | 520 | 525 | |
| aac aag ctg gac ctg tat cac ggg cgc tgc ttc acg gag ctg ccg cgc | | | 1689 |
| Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Gly Arg Ser Phe Thr Glu Leu Pro Arg | | | |
| 530 | 535 | 540 | 545 |
| ctg gaa gca ctg gac ctc agc tac aac agc cag ccc ttt acc atg cag | | | 1737 |
| Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Thr Met Gln | | | |
| 550 | 555 | 560 | |
| ggt gtg ggc cac aac ctc agc ttc gtg gcc cag ctg ccc gcc ctg cgc | | | 1785 |
| Gly Val Gly His Asn Leu Ser Phe Val Ala Gln Leu Pro Ala Leu Arg | | | |
| 565 | 570 | 575 | |
| tac ctc agc ctg gcg cac aat gac atc cat agc cga gtg tcc cag cag | | | 1833 |
| Tyr Leu Ser Leu Ala His Asn Asp Ile His Ser Arg Val Ser Gln Gln | | | |
| 580 | 585 | 590 | |
| ctc tgt agc gcc tca ctg tgc gcc ctg gac ttt agc ggc aac gat ctg | | | 1881 |
| Leu Cys Ser Ala Ser Leu Cys Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn Asp Leu | | | |
| 595 | 600 | 605 | |

8 / 8 8

| | |
|--|------|
| agc cgg atg tgg gct gag gga gac ctc tat ctc cgc ttc ttc caa ggc | 1929 |
| Ser Arg Met Trp Ala Glu Gly Asp Leu Tyr Leu Arg Phe Phe Gln Gly | |
| 610 615 620 625 | |
| cta aga agc cta gtc tgg ctg gac ctg tcc cag aac cac ctg cac acc | 1977 |
| Leu Arg Ser Leu Val Trp Leu Asp Leu Ser Gln Asn His Leu His Thr | |
| 630 635 640 | |
| ctc ctg cca cgt gcc ctg gac aac ctc ccc aaa agc ctg aag cat ctg | 2025 |
| Leu Leu Pro Arg Ala Leu Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu Lys His Leu | |
| 645 650 655 | |
| cat ctc cgt gac aat aac ctg gcc ttc ttc aac tgg agc agc ctg acc | 2073 |
| His Leu Arg Asp Asn Asn Leu Ala Phe Phe Asn Trp Ser Ser Leu Thr | |
| 660 665 670 | |
| ctc ctg ccc aag ctg gaa acc ctg gac ttg gct gga aac cag ctg aag | 2121 |
| Leu Leu Pro Lys Leu Glu Thr Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu Lys | |
| 675 680 685 | |
| gcc cta agc aat ggc agc ctg cca tct ggc acc cag ctg cgg agg ctg | 2169 |
| Ala Leu Ser Asn Gly Ser Leu Pro Ser Gly Thr Gln Leu Arg Arg Leu | |
| 690 695 700 705 | |
| gac ctc agt ggc aac agc atc ggc ttt gtg aac cct ggc ttc ttt gcc | 2217 |
| Asp Leu Ser Gly Asn Ser Ile Gly Phe Val Asn Pro Gly Phe Phe Ala | |

9 / 8 8

710

715

720

ctg gcc aag cag tta gaa gag ctc aac ctc agc gcc aat gcc ctc aag 2265

Leu Ala Lys Gln Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala Leu Lys

725

730

735

aca gtg gag ccc tcc tgg ttt ggc tcg atg gtg ggc aac ctg aaa gtc 2313

Thr Val Glu Pro Ser Trp Phe Gly Ser Met Val Gly Asn Leu Lys Val

740

745

750

cta gac gtg agc gcc aac cct ctg cac tgc gcc tgt ggg gcg acc ttc 2361

Leu Asp Val Ser Ala Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Thr Phe

755

760

765

gtg ggc ttc ctg ctg gag gta cag gct gcc gtg cct ggg ctg ccc agc 2409

Val Gly Phe Leu Leu Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu Pro Ser

770

775

780

785

cgc gtc aag tgt ggc agt ccg ggg cag ctc cag ggc cat agc atc ttt 2457

Arg Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly His Ser Ile Phe

790

795

800

gcg caa gac ctg cgc ctc tgc ctg gat gag acc ctc tcg tgg aac tgt 2505

Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Thr Leu Ser Trp Asn Cys

805

810

815

10/88

ttt ggc atc tcg ctg ctg gcc atg gcc ctg ggc ctg gtt gtg ccc atg 2553
Phe Gly Ile Ser Leu Leu Ala Met Ala Leu Gly Leu Val Val Pro Met

820

825

830

ctg cac cac ctc tgc ggc tgg gac ctc tgg tac tgc ttc cac ctg tgc 2601
Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His Leu Cys

835

840

845

ctg gcc tgg ctg ccc cac cga ggg cag cgg cgg ggc gca gac gcc ctg 2649
Leu Ala Trp Leu Pro His Arg Gly Gln Arg Arg Gly Ala Asp Ala Leu

850

855

860

865

ttc tat gat gcc ttc gtg gtc ttt gac aaa gct cag agt gct gtg gcc 2697
Phe Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala Val Ala

870

875

880

gac tgg gtg tac aac gag ctg cgg gtg cag ctg gag gag cgc cgt ggg 2745
Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Val Gln Leu Glu Glu Arg Arg Gly

885

890

895

cgc cgc gca ctg cgc ctg tgc ctg gag gag cga gac tgg tta cct ggc 2793
Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu Pro Gly

900

905

910

aag acg ctc ttc gag aac ctg tgg gcc tca gtc tac agc agc cgc aag 2841
Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr Ser Ser Arg Lys

11 / 88

| | | | |
|--|------|------|------|
| 915 | 920 | 925 | |
| acc ctg ttt gtg ctg gcc cac acg gac cgt gtc agc ggc ctc ttg cgt 2889 | | | |
| Thr Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu Arg | | | |
| 930 | 935 | 940 | 945 |
| gcc agt ttc ctg ctg gcc cag cag cgc ctg ctg gag gac cgc aag gac 2937 | | | |
| Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys Asp | | | |
| | 950 | 955 | 960 |
| gtt gta gtg ctg gtg atc ctg cgc ccc gat gcc tac cgc tcc cgc tac 2985 | | | |
| Val Val Val Leu Val Ile Leu Arg Pro Asp Ala Tyr Arg Ser Arg Tyr | | | |
| | 965 | 970 | 975 |
| gtg cgg ctg cgc cag cgc ctc tgc cgc cag agt gtc ctc ctc tgg ccc 3033 | | | |
| Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu Trp Pro | | | |
| | 980 | 985 | 990 |
| cac cag ccc cgt ggg cag ggc agc ttc tgg gcc cag ctg ggc aca gcc 3081 | | | |
| His Gln Pro Arg Gly Gln Gly Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly Thr Ala | | | |
| | 995 | 1000 | 1005 |
| ctg acc agg gac aac cgc cac ttc tat aac cgg aac ttc tgc cgg 3126 | | | |
| Leu Thr Arg Asp Asn Arg His Phe Tyr Asn Arg Asn Phe Cys Arg | | | |
| 1010 | 1015 | 1020 | |

1 2 / 8 8

ggc ccc acg aca gcc gaa tag cactgagtga cagcccagtt gccccagccc 3177

Gly Pro Thr Thr Ala Glu

1025 1030

ccctggattt gcctctctgc ctgggtgccc caacctgctt tgctcagcca caccactgct 3237

ctgctccctg ttccccaccc cccccccag cctggcatgt aacatgtgcc caataaatgc 3297

taccggaggc caagcaaaaa aaaaaaaaaa aa 3329

<210> 2

<211> 1030

<212> PRT

<213> Sus scrofa

<400> 2

Met Gly Pro Arg Cys Thr Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Val

1 5 10 15

Thr Ala Leu Ala Ala Thr Leu Ala Gln Gly Arg Leu Pro Ala Phe Leu

20 25 30

Pro Cys Glu Leu Gln Pro His Gly Leu Val Asn Cys Asn Trp Leu Phe

35 40 45

1 3 / 8 8

Leu Lys Ser Val Pro His Phe Ser Ala Ala Ala Pro Arg Ala Asn Val
50 55 60

Thr Ser Leu Ser Leu Leu Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp Ser
65 70 75 80

Asp Phe Val His Leu Ser Ser Leu Arg Thr Leu Asn Leu Lys Trp Asn
85 90 95

Cys Pro Pro Ala Gly Leu Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met Thr
100 105 110

Ile Glu Pro Asn Thr Phe Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu Asn
115 120 125

Leu Ser Tyr Asn Ser Ile Thr Thr Val Pro Ala Leu Pro Asp Ser Leu
130 135 140

Val Ser Leu Ser Leu Ser Arg Thr Asn Ile Leu Val Leu Asp Pro Thr
145 150 155 160

His Leu Thr Gly Leu His Ala Leu Arg Tyr Leu Tyr Met Asp Gly Asn
165 170 175

Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Gln Gly Ala Leu Glu Val Val Pro Gly
180 185 190

1 4 / 8 8

Ala Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn

195

200

205

Asn Leu Thr Glu Val Pro Arg Ser Leu Pro Pro Ser Leu Glu Thr Leu

210

215

220

Leu Leu Ser Tyr Asn His Ile Val Thr Leu Thr Pro Glu Asp Leu Ala

225

230

235

240

Asn Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg

245

250

255

Cys Asp His Ala Arg Asn Pro Cys Arg Glu Cys Pro Lys Asp His Pro

260

265

270

Lys Leu His Ser Asp Thr Phe Ser His Leu Ser Arg Leu Glu Gly Leu

275

280

285

Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu Tyr Asn Leu Asp Ala Arg Trp Phe Arg

290

295

300

Gly Leu Asp Arg Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr

305

310

315

320

Asp Cys Ile Thr Lys Thr Thr Ala Phe Gln Gly Leu Ala Arg Leu Arg

1 5 / 8 8

325

330

335

Lys Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr His Lys Lys Val Ser Phe Ala His

340

345

350

Leu His Leu Ala Pro Ser Phe Gly His Leu Arg Ser Leu Lys Glu Leu

355

360

365

Asp Met His Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Ser Glu Thr Thr Leu Gln

370

375

380

Pro Leu Val Gln Leu Pro Met Leu Gln Thr Leu Arg Leu Gln Met Asn

385

390

395

400

Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser Ile Phe Gly Ala Phe Pro Gly Leu

405

410

415

Leu Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Ala Arg Pro

420

425

430

Val Ala Ile Thr Arg Glu Val Asp Gly Arg Glu Arg Val Trp Leu Pro

435

440

445

Ser Arg Asn Leu Ala Pro Arg Pro Leu Asp Thr Leu Arg Ser Glu Asp

450

455

460

1 6 / 8 8

Phe Met Pro Asn Cys Lys Ala Phe Ser Phe Thr Leu Asp Leu Ser Arg
465 470 475 480

Asn Asn Leu Val Thr Ile Gln Ser Glu Met Phe Ala Arg Leu Ser Arg
485 490 495

Leu Glu Cys Leu Arg Leu Ser His Asn Ser Ile Ser Gln Ala Val Asn
500 505 510

Gly Ser Gln Phe Val Pro Leu Thr Ser Leu Arg Val Leu Asp Leu Ser
515 520 525

His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Gly Arg Ser Phe Thr Glu Leu Pro
530 535 540

Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Thr Met
545 550 555 560

Gln Gly Val Gly His Asn Leu Ser Phe Val Ala Gln Leu Pro Ala Leu
565 570 575

Arg Tyr Leu Ser Leu Ala His Asn Asp Ile His Ser Arg Val Ser Gln
580 585 590

Gln Leu Cys Ser Ala Ser Leu Cys Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn Asp
595 600 605

17 / 88

Leu Ser Arg Met Trp Ala Glu Gly Asp Leu Tyr Leu Arg Phe Phe Gln

610

615

620

Gly Leu Arg Ser Leu Val Trp Leu Asp Leu Ser Gln Asn His Leu His

625

630

635

640

Thr Leu Leu Pro Arg Ala Leu Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu Lys His

645

650

655

Leu His Leu Arg Asp Asn Asn Leu Ala Phe Phe Asn Trp Ser Ser Leu

660

665

670

Thr Leu Leu Pro Lys Leu Glu Thr Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu

675

680

685

Lys Ala Leu Ser Asn Gly Ser Leu Pro Ser Gly Thr Gln Leu Arg Arg

690

695

700

Leu Asp Leu Ser Gly Asn Ser Ile Gly Phe Val Asn Pro Gly Phe Phe

705

710

715

720

Ala Leu Ala Lys Gln Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala Leu

725

730

735

Lys Thr Val Glu Pro Ser Trp Phe Gly Ser Met Val Gly Asn Leu Lys

1 8 / 8 8

740

745

750

Val Leu Asp Val Ser Ala Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Thr

755

760

765

Phe Val Gly Phe Leu Leu Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu Pro

770

775

780

Ser Arg Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly His Ser Ile

785

790

795

800

Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Thr Leu Ser Trp Asn

805

810

815

Cys Phe Gly Ile Ser Leu Leu Ala Met Ala Leu Gly Leu Val Val Pro

820

825

830

Met Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His Leu

835

840

845

Cys Leu Ala Trp Leu Pro His Arg Gly Gln Arg Arg Gly Ala Asp Ala

850

855

860

Leu Phe Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala Val

865

870

875

880

19 / 88

Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Val Gln Leu Glu Glu Arg Arg
885 890 895

Gly Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu Pro
900 905 910

Gly Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr Ser Ser Arg
915 920 925

Lys Thr Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu
930 935 940

Arg Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys
945 950 955 960

Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu Arg Pro Asp Ala Tyr Arg Ser Arg
965 970 975

Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu Trp
980 985 990

Pro His Gln Pro Arg Gly Gln Gly Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly Thr
995 1000 1005

Ala Leu Thr Arg Asp Asn Arg His Phe Tyr Asn Arg Asn Phe Cys
1010 1015 1020

20 / 88

Arg Gly Pro Thr Thr Ala Glu

1025

1030

<210> 3

<211> 3868

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (635).. (3733)

<223>

<400> 3

ggaggctctg ttccggaag atgttgcaag gctgtggtga aggcaggatgc agcctagcct 60

cctgtcaag ctacacctg gccctccacg catgaggccc tgcagaactc tggagatggt 120

gcctacaagg gcagaaaagg acaagtcggc agccgctgtc ctgagggcac cagctgtggt 180

gcaggagcca agacctgagg gtggaagtgt cctcttagaa tggggagtgc ccagcaaggt 240

gtaccgccta ctggtgctat ccagaattcc catctctccc tgcctctctg ctgagctctg 300

21 / 88

ggccttagct cctccctggg cttggtagag gacagggtg aggccctcat gggatgtagg 360

ctgtctgaga ggggagtga aagaggaagg ggtgaaggag ctgtctgcca ttgactatg 420

caaatggcct ttgactcatg ggaccctgtc ctcctcactg ggggcagggt ggagtggagg 480

gggagctact aggcctgtat aaaaatctta cttcctctat tctctgagcc gctctgccc 540

ctgtgggaag ggacctgag tgtgaagcat cctccctgt agctctgtc cagtctgccc 600

gccagaccct ctggagaagc ccctgcccc cagc atg ggt ttc tgc cgc agc gcc 655

Met Gly Phe Cys Arg Ser Ala

1

5

ctg cac ccg ctg tct ctc ctg gtg cag gcc atc atg ctg gcc atg acc 703

Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Ala Ile Met Leu Ala Met Thr

10

15

20

ctg gcc ctg ggt acc ttg cct gcc ttc cta ccc tgt gag ctc cag ccc 751

Leu Ala Leu Gly Thr Leu Pro Ala Phe Leu Pro Cys Glu Leu Gln Pro

25

30

35

cac ggc ctg gtg aac tgc aac tgg ctg ttc ctg aag tct gtg ccc cac 799

His Gly Leu Val Asn Cys Asn Trp Leu Phe Leu Lys Ser Val Pro His

40

45

50

55

2 2 / 8 8

| | |
|---|------|
| ttc tcc atg gca gca ccc cgt ggc aat gtc acc agc ctt tcc ttg tcc | 847 |
| Phe Ser Met Ala Ala Pro Arg Gly Asn Val Thr Ser Leu Ser Leu Ser | |
| 60 65 70 | |
| | |
| tcc aac cgc atc cac cac ctc cat gat tct gac ttt gcc cac ctg ccc | 895 |
| Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp Ser Asp Phe Ala His Leu Pro | |
| 75 80 85 | |
| | |
| agc ctg cgg cat ctc aac ctc aag tgg aac tgc ccg ccg gtt ggc ctc | 943 |
| Ser Leu Arg His Leu Asn Leu Lys Trp Asn Cys Pro Pro Val Gly Leu | |
| 90 95 100 | |
| | |
| agc ccc atg cac ttc ccc tgc cac atg acc atc gag ccc agc acc ttc | 991 |
| Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met Thr Ile Glu Pro Ser Thr Phe | |
| 105 110 115 | |
| | |
| ttg gct gtg ccc acc ctg gaa gag cta aac ctg agc tac aac aac atc | 1039 |
| Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Asn Ile | |
| 120 125 130 135 | |
| | |
| atg act gtg cct gcg ctg ccc aaa tcc ctc ata tcc ctg tcc ctc agc | 1087 |
| Met Thr Val Pro Ala Leu Pro Lys Ser Leu Ile Ser Leu Ser Leu Ser | |
| 140 145 150 | |
| | |
| cat acc aac atc ctg atg cta gac tct gcc agc ctc gcc ggc ctg cat | 1135 |
| His Thr Asn Ile Leu Met Leu Asp Ser Ala Ser Leu Ala Gly Leu His | |

2 3 / 8 8

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 155 | 160 | 165 | |
| gcc ctg cgc ttc cta ttc atg gac ggc aac tgt tat tac aag aac ccc | | | 1183 |
| Ala Leu Arg Phe Leu Phe Met Asp Gly Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro | | | |
| 170 | 175 | 180 | |
| tgc agg cag gca ctg gag gtg gcc ccg ggt gcc ctc ctt ggc ctg ggc | | | 1231 |
| Cys Arg Gln Ala Leu Glu Val Ala Pro Gly Ala Leu Leu Gly Leu Gly | | | |
| 185 | 190 | 195 | |
| aac ctc acc cac ctg tca ctc aag tac aac aac ctc act gtg gtg ccc | | | 1279 |
| Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn Asn Leu Thr Val Val Pro | | | |
| 200 | 205 | 210 | 215 |
| cgc aac ctg cct tcc agc ctg gag tat ctg ctg ttg tcc tac aac cgc | | | 1327 |
| Arg Asn Leu Pro Ser Ser Leu Glu Tyr Leu Leu Leu Ser Tyr Asn Arg | | | |
| 220 | 225 | 230 | |
| atc gtc aaa ctg gcg cct gag gac ctg gcc aat ctg acc gcc ctg cgt | | | 1375 |
| Ile Val Lys Leu Ala Pro Glu Asp Leu Ala Asn Leu Thr Ala Leu Arg | | | |
| 235 | 240 | 245 | |
| gtg ctc gat gtg ggc gga aat tgc cgc cgc tgc gac cac gct ccc aac | | | 1423 |
| Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg Cys Asp His Ala Pro Asn | | | |
| 250 | 255 | 260 | |

24/88

ccc tgc atg gag tgc cct cgt cac ttc ccc cag cta cat ccc gat acc 1471

Pro Cys Met Glu Cys Pro Arg His Phe Pro Gln Leu His Pro Asp Thr

265

270

275

ttc agc cac ctg agc cgt ctt gaa ggc ctg gtg ttg aag gac agt tct 1519

Phe Ser His Leu Ser Arg Leu Glu Gly Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser

280

285

290

295

ctc tcc tgg ctg aat gcc agt tgg ttc cgt ggg ctg gga aac ctc cga 1567

Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Trp Phe Arg Gly Leu Gly Asn Leu Arg

300

305

310

gtg ctg gac ctg agt gag aac ttc ctc tac aaa tgc atc act aaa acc 1615

Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr Lys Cys Ile Thr Lys Thr

315

320

325

aag gcc ttc cag ggc cta aca cag ctg cgc aag ctt aac ctg tcc ttc 1663

Lys Ala Phe Gln Gly Leu Thr Gln Leu Arg Lys Leu Asn Leu Ser Phe

330

335

340

aat tac caa aag agg gtg tcc ttt gcc cac ctg tct ctg gcc cct tcc 1711

Asn Tyr Gln Lys Arg Val Ser Phe Ala His Leu Ser Leu Ala Pro Ser

345

350

355

ttc ggg agc ctg gtc gcc ctg aag gag ctg gac atg cac ggc atc ttc 1759

Phe Gly Ser Leu Val Ala Leu Lys Glu Leu Asp Met His Gly Ile Phe

2 5 / 8 8

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|------|
| 360 | 365 | 370 | 375 | |
| ttc cgc tca ctc gat gag acc acg ctc cgg cca ctg gcc cgc ctg ccc | | | | 1807 |
| Phe Arg Ser Leu Asp Glu Thr Thr Leu Arg Pro Leu Ala Arg Leu Pro | | | | |
| | 380 | 385 | 390 | |
| atg ctc cag act ctg cgt ctg cag atg aac ttc atc aac cag gcc cag | | | | 1855 |
| Met Leu Gln Thr Leu Arg Leu Gln Met Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln | | | | |
| | 395 | 400 | 405 | |
| ctc ggc atc ttc agg gcc ttc cct ggc ctg cgc tac gtg gac ctg tcg | | | | 1903 |
| Leu Gly Ile Phe Arg Ala Phe Pro Gly Leu Arg Tyr Val Asp Leu Ser | | | | |
| | 410 | 415 | 420 | |
| gac aac cgc atc agc gga gct tcg gag ctg aca gcc acc atg ggg gag | | | | 1951 |
| Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Ser Glu Leu Thr Ala Thr Met Gly Glu | | | | |
| | 425 | 430 | 435 | |
| gca gat gga ggg gag aag gtc tgg ctg cag cct ggg gac ctt gct ccg | | | | 1999 |
| Ala Asp Gly Gly Glu Lys Val Trp Leu Gln Pro Gly Asp Leu Ala Pro | | | | |
| 440 | 445 | 450 | 455 | |
| gcc cca gtg gac act ccc agc tct gaa gac ttc agg ccc aac tgc agc | | | | 2047 |
| Ala Pro Val Asp Thr Pro Ser Ser Glu Asp Phe Arg Pro Asn Cys Ser | | | | |
| | 460 | 465 | 470 | |

26 / 88

| | |
|---|------|
| acc ctc aac ttc acc ttg gat ctg tca cgg aac aac ctg gtg acc gtg | 2095 |
| Thr Leu Asn Phe Thr Leu Asp Leu Ser Arg Asn Asn Leu Val Thr Val | |
| 475 480 485 | |
| cag ccg gag atg ttt gcc cag ctc tcg cac ctg cag tgc ctg cgc ctg | 2143 |
| Gln Pro Glu Met Phe Ala Gln Leu Ser His Leu Gln Cys Leu Arg Leu | |
| 490 495 500 | |
| agc cac aac tgc atc tcg cag gca gtc aat ggc tcc cag ttc ctg ccg | 2191 |
| Ser His Asn Cys Ile Ser Gln Ala Val Asn Gly Ser Gln Phe Leu Pro | |
| 505 510 515 | |
| ctg acc ggt ctg cag gtg cta gac ctg tcc cac aat aag ctg gac ctc | 2239 |
| Leu Thr Gly Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser His Asn Lys Leu Asp Leu | |
| 520 525 530 535 | |
| tac cac gag cac tca ttc acg gag cta cca cga ctg gag gcc ctg gac | 2287 |
| Tyr His Glu His Ser Phe Thr Glu Leu Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp | |
| 540 545 550 | |
| ctc agc tac aac agc cag ccc ttt ggc atg cag ggc gtg ggc cac aac | 2335 |
| Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Gly Met Gln Gly Val Gly His Asn | |
| 555 560 565 | |
| ttc agc ttc gtg gct cac ctg cgc acc ctg cgc cac ctc agc ctg gcc | 2383 |
| Phe Ser Phe Val Ala His Leu Arg Thr Leu Arg His Leu Ser Leu Ala | |

27 / 88

570

575

580

cac aac aac atc cac agc caa gtg tcc cag cag ctc tgc agt acg tcg 2431

His Asn Asn Ile His Ser Gln Val Ser Gln Gln Leu Cys Ser Thr Ser

585

590

595

ctg cgg gcc ctg gac ttc agc ggc aat gca ctg ggc cat atg tgg gcc 2479

Leu Arg Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn Ala Leu Gly His Met Trp Ala

600

605

610

615

gag gga gac ctc tat ctg cac ttc ttc caa ggc ctg agc ggt ttg atc 2527

Glu Gly Asp Leu Tyr Leu His Phe Phe Gln Gly Leu Ser Gly Leu Ile

620

625

630

tgg ctg gac ttg tcc cag aac cgc ctg cac acc ctc ctg ccc caa acc 2575

Trp Leu Asp Leu Ser Gln Asn Arg Leu His Thr Leu Leu Pro Gln Thr

635

640

645

ctg cgc aac ctc ccc aag agc cta cag gtg ctg cgt ctc cgt gac aat 2623

Leu Arg Asn Leu Pro Lys Ser Leu Gln Val Leu Arg Leu Arg Asp Asn

650

655

660

tac ctg gcc ttc ttt aag tgg tgg agc ctc cac ttc ctg ccc aaa ctg 2671

Tyr Leu Ala Phe Phe Lys Trp Trp Ser Leu His Phe Leu Pro Lys Leu

665

670

675

28 / 88

| | |
|--|------|
| gaa gtc ctc gac ctg gca gga aac cag ctg aag gcc ctg acc aat ggc | 2719 |
| Glu Val Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu Lys Ala Leu Thr Asn Gly | |
| 680 685 690 695 | |
| | |
| agc ctg cct gct ggc acc cgg ctc cgg agg ctg gat gtc agc tgc aac | 2767 |
| Ser Leu Pro Ala Gly Thr Arg Leu Arg Arg Leu Asp Val Ser Cys Asn | |
| 700 705 710 | |
| | |
| agc atc agc ttc gtg gcc ccc ggc ttc ttt tcc aag gcc aag gag ctg | 2815 |
| Ser Ile Ser Phe Val Ala Pro Gly Phe Phe Ser Lys Ala Lys Glu Leu | |
| 715 720 725 | |
| | |
| cga gag ctc aac ctt agc gcc aac gcc ctc aag aca gtg gac cac tcc | 2863 |
| Arg Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala Leu Lys Thr Val Asp His Ser | |
| 730 735 740 | |
| | |
| tgg ttt ggg ccc ctg gcg agt gcc ctg caa ata cta gat gta agc gcc | 2911 |
| Trp Phe Gly Pro Leu Ala Ser Ala Leu Gln Ile Leu Asp Val Ser Ala | |
| 745 750 755 | |
| | |
| aac cct ctg cac tgc gcc tgt ggg gcg gcc ttt atg gac ttc ctg ctg | 2959 |
| Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Ala Phe Met Asp Phe Leu Leu | |
| 760 765 770 775 | |
| | |
| gag gtg cag gct gcc gtg ccc ggt ctg ccc agc cgg gtg aag tgt ggc | 3007 |
| Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu Pro Ser Arg Val Lys Cys Gly | |

29 / 88

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 780 | 785 | 790 | |
| agt ccg ggc cag ctc cag ggc ctc agc atc ttt gca cag gac ctg cgc | | | 3055 |
| Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly Leu Ser Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg | | | |
| 795 | 800 | 805 | |
| ctc tgc ctg gat gag gcc ctc tcc tgg gac tgt ttc gcc ctc tcg ctg | | | 3103 |
| Leu Cys Leu Asp Glu Ala Leu Ser Trp Asp Cys Phe Ala Leu Ser Leu | | | |
| 810 | 815 | 820 | |
| ctg gct gtg gct ctg ggc ctg ggt gtg ccc atg ctg cat cac ctc tgt | | | 3151 |
| Leu Ala Val Ala Leu Gly Leu Gly Val Pro Met Leu His His Leu Cys | | | |
| 825 | 830 | 835 | |
| ggc tgg gac ctc tgg tac tgc ttc cac ctg tgc ctg gcc tgg ctt ccc | | | 3199 |
| Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro | | | |
| 840 | 845 | 850 | 855 |
| tgg cgg ggg cgg caa agt ggg cga gat gag gat gcc ctg ccc tac gat | | | 3247 |
| Trp Arg Gly Arg Gln Ser Gly Arg Asp Glu Asp Ala Leu Pro Tyr Asp | | | |
| 860 | 865 | 870 | |
| gcc ttc gtg gtc ttc gac aaa acg cag agc gca gtg gca gac tgg gtg | | | 3295 |
| Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Thr Gln Ser Ala Val Ala Asp Trp Val | | | |
| 875 | 880 | 885 | |

30 / 88

tac aac gag ctt cgg ggg cag ctg gag gag tgc cgt ggg cgc tgg gca 3343
Tyr Asn Glu Leu Arg Gly Gln Leu Glu Glu Cys Arg Gly Arg Trp Ala

890

895

900

ctc cgc ctg tgc ctg gag gaa cgc gac tgg ctg cct ggc aaa acc ctc 3391
Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu Pro Gly Lys Thr Leu

905

910

915

ttt gag aac ctg tgg gcc tcg gtc tat ggc agc cgc aag acg ctg ttt 3439
Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr Gly Ser Arg Lys Thr Leu Phe

920

925

930

935

gtg ctg gcc cac acg gac cgg gtc agt ggt ctc ttg cgc gcc agc ttc 3487
Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu Arg Ala Ser Phe

940

945

950

ctg ctg gcc cag cag cgc ctg ctg gag gac cgc aag gac gtc gtg gtg 3535
Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys Asp Val Val Val

955

960

965

ctg gtg atc ctg agc cct gac ggc cgc cgc tcc cgc tac gtg cgg ctg 3583
Leu Val Ile Leu Ser Pro Asp Gly Arg Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu

970

975

980

cgc cag cgc ctc tgc cgc cag agt gtc ctc ctc tgg ccc cac cag ccc 3631
Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu Trp Pro His Gln Pro

3 1 / 8 8

985

990

995

agt ggt cag cgc agc ttc tgg gcc cag ctg ggc atg gcc ctg acc 3676

Ser Gly Gln Arg Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly Met Ala Leu Thr

1000

1005

1010

agg gac aac cac cac ttc tat aac cgg aac ttc tgc cag gga ccc 3721

Arg Asp Asn His His Phe Tyr Asn Arg Asn Phe Cys Gln Gly Pro

1015

1020

1025

acg gcc gaa tag ccgtgagccg gaatcctgca cggtgccacc tccacactca 3773

Thr Ala Glu

1030

cctcacctct gcctgcctgg tctgaccctc cctgctcgc ctccctcacc ccacacctga 3833

cacagagcag gcactcaata aatgctaccg aaggc 3868

<210> 4

<211> 1032

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Gly Phe Cys Arg Ser Ala Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln

3 2 / 8 8

| | | | |
|---|-----|-----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Ala Ile Met Leu Ala Met Thr Leu Ala Leu Gly Thr Leu Pro Ala Phe | | | |
| 20 | 25 | 30 | |
| Leu Pro Cys Glu Leu Gln Pro His Gly Leu Val Asn Cys Asn Trp Leu | | | |
| 35 | 40 | 45 | |
| Phe Leu Lys Ser Val Pro His Phe Ser Met Ala Ala Pro Arg Gly Asn | | | |
| 50 | 55 | 60 | |
| Val Thr Ser Leu Ser Leu Ser Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp | | | |
| 65 | 70 | 75 | 80 |
| Ser Asp Phe Ala His Leu Pro Ser Leu Arg His Leu Asn Leu Lys Trp | | | |
| 85 | 90 | 95 | |
| Asn Cys Pro Pro Val Gly Leu Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met | | | |
| 100 | 105 | 110 | |
| Thr Ile Glu Pro Ser Thr Phe Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu | | | |
| 115 | 120 | 125 | |
| Asn Leu Ser Tyr Asn Asn Ile Met Thr Val Pro Ala Leu Pro Lys Ser | | | |
| 130 | 135 | 140 | |

33 / 88

Leu Ile Ser Leu Ser Leu Ser His Thr Asn Ile Leu Met Leu Asp Ser
145 150 155 160

Ala Ser Leu Ala Gly Leu His Ala Leu Arg Phe Leu Phe Met Asp Gly
165 170 175

Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Arg Gln Ala Leu Glu Val Ala Pro
180 185 190

Gly Ala Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr
195 200 205

Asn Asn Leu Thr Val Val Pro Arg Asn Leu Pro Ser Ser Leu Glu Tyr
210 215 220

Leu Leu Leu Ser Tyr Asn Arg Ile Val Lys Leu Ala Pro Glu Asp Leu
225 230 235 240

Ala Asn Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg
245 250 255

Arg Cys Asp His Ala Pro Asn Pro Cys Met Glu Cys Pro Arg His Phe
260 265 270

Pro Gln Leu His Pro Asp Thr Phe Ser His Leu Ser Arg Leu Glu Gly
275 280 285

34 / 88

Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu Ser Trp Leu Asn Ala Ser Trp Phe

290

295

300

Arg Gly Leu Gly Asn Leu Arg Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu

305

310

315

320

Tyr Lys Cys Ile Thr Lys Thr Lys Ala Phe Gln Gly Leu Thr Gln Leu

325

330

335

Arg Lys Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr Gln Lys Arg Val Ser Phe Ala

340

345

350

His Leu Ser Leu Ala Pro Ser Phe Gly Ser Leu Val Ala Leu Lys Glu

355

360

365

Leu Asp Met His Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Asp Glu Thr Thr Leu

370

375

380

Arg Pro Leu Ala Arg Leu Pro Met Leu Gln Thr Leu Arg Leu Gln Met

385

390

395

400

Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Gly Ile Phe Arg Ala Phe Pro Gly

405

410

415

Leu Arg Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Ser Glu

3 5 / 8 8

420

425

430

Leu Thr Ala Thr Met Gly Glu Ala Asp Gly Gly Glu Lys Val Trp Leu

435

440

445

Gln Pro Gly Asp Leu Ala Pro Ala Pro Val Asp Thr Pro Ser Ser Glu

450

455

460

Asp Phe Arg Pro Asn Cys Ser Thr Leu Asn Phe Thr Leu Asp Leu Ser

465

470

475

480

Arg Asn Asn Leu Val Thr Val Gln Pro Glu Met Phe Ala Gln Leu Ser

485

490

495

His Leu Gln Cys Leu Arg Leu Ser His Asn Cys Ile Ser Gln Ala Val

500

505

510

Asn Gly Ser Gln Phe Leu Pro Leu Thr Gly Leu Gln Val Leu Asp Leu

515

520

525

Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Glu His Ser Phe Thr Glu Leu

530

535

540

Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Gly

545

550

555

560

3 6 / 8 8

Met Gln Gly Val Gly His Asn Phe Ser Phe Val Ala His Leu Arg Thr
565 570 575

Leu Arg His Leu Ser Leu Ala His Asn Asn Ile His Ser Gln Val Ser
580 585 590

Gln Gln Leu Cys Ser Thr Ser Leu Arg Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn
595 600 605

Ala Leu Gly His Met Trp Ala Glu Gly Asp Leu Tyr Leu His Phe Phe
610 615 620

Gln Gly Leu Ser Gly Leu Ile Trp Leu Asp Leu Ser Gln Asn Arg Leu
625 630 635 640

His Thr Leu Leu Pro Gln Thr Leu Arg Asn Leu Pro Lys Ser Leu Gln
645 650 655

Val Leu Arg Leu Arg Asp Asn Tyr Leu Ala Phe Phe Lys Trp Trp Ser
660 665 670

Leu His Phe Leu Pro Lys Leu Glu Val Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln
675 680 685

Leu Lys Ala Leu Thr Asn Gly Ser Leu Pro Ala Gly Thr Arg Leu Arg
690 695 700

37 / 88

Arg Leu Asp Val Ser Cys Asn Ser Ile Ser Phe Val Ala Pro Gly Phe
705 710 715 720

Phe Ser Lys Ala Lys Glu Leu Arg Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala
725 730 735

Leu Lys Thr Val Asp His Ser Trp Phe Gly Pro Leu Ala Ser Ala Leu
740 745 750

Gln Ile Leu Asp Val Ser Ala Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala
755 760 765

Ala Phe Met Asp Phe Leu Leu Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu
770 775 780

Pro Ser Arg Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly Leu Ser
785 790 795 800

Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Ala Leu Ser Trp
805 810 815

Asp Cys Phe Ala Leu Ser Leu Leu Ala Val Ala Leu Gly Leu Gly Val
820 825 830

Pro Met Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His

3 8 / 8 8

835

840

845

Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Trp Arg Gly Arg Gln Ser Gly Arg Asp

850

855

860

Glu Asp Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Thr Gln

865

870

875

880

Ser Ala Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Gly Gln Leu Glu

885

890

895

Glu Cys Arg Gly Arg Trp Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp

900

905

910

Trp Leu Pro Gly Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr

915

920

925

Gly Ser Arg Lys Thr Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser

930

935

940

Gly Leu Leu Arg Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu

945

950

955

960

Asp Arg Lys Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu Ser Pro Asp Gly Arg

965

970

975

3 9 / 8 8

Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val

980

985

990

Leu Leu Trp Pro His Gln Pro Ser Gly Gln Arg Ser Phe Trp Ala Gln

995

1000

1005

Leu Gly Met Ala Leu Thr Arg Asp Asn His His Phe Tyr Asn Arg

1010

1015

1020

Asn Phe Cys Gln Gly Pro Thr Ala Glu

1025

1030

<210> 5

<211> 3340

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> CDS

<222> (86).. (3184)

<223>

<400> 5

tctctgagag accctgggtgt ggaacatcat tctctgccgc ccagtttgtc agaggagacc

60

40 / 88

tcgggagaat cctccatctc ccaac atg gtt ctc cgt cga agg act ctg cac 112

Met Val Leu Arg Arg Arg Thr Leu His

1

5

ccc ttg tcc ctc ctg gta cag gct gca gtg ctg gct gag act ctg gcc 160

Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Ala Ala Val Leu Ala Glu Thr Leu Ala

10

15

20

25

ctg ggt acc ctg cct gcc ttc cta ccc tgt gag ctg aag cct cat ggc 208

Leu Gly Thr Leu Pro Ala Phe Leu Pro Cys Glu Leu Lys Pro His Gly

30

35

40

ctg gtg gac tgc aat tgg ctg ttc ctg aag tct gta ccc cgt ttc tct 256

Leu Val Asp Cys Asn Trp Leu Phe Leu Lys Ser Val Pro Arg Phe Ser

45

50

55

gcg gca gca tcc tgc tcc aac atc acc cgc ctc tcc ttg atc tcc aac 304

Ala Ala Ala Ser Cys Ser Asn Ile Thr Arg Leu Ser Leu Ile Ser Asn

60

65

70

cgt atc cac cac ctg cac aac tcc gac ttc gtc cac ctg tcc aac ctg 352

Arg Ile His His Leu His Asn Ser Asp Phe Val His Leu Ser Asn Leu

75

80

85

cgg cag ctg aac ctc aag tgg aac tgt cca ccc act ggc ctt agc ccc 400

Arg Gln Leu Asn Leu Lys Trp Asn Cys Pro Pro Thr Gly Leu Ser Pro

4 1 / 8 8

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|
| 90 | 95 | 100 | 105 | |
| ctg cac ttc tct tgc cac atg acc att gag ccc aga acc ttc ctg gct | | | | 448 |
| Leu His Phe Ser Cys His Met Thr Ile Glu Pro Arg Thr Phe Leu Ala | | | | |
| | 110 | 115 | 120 | |
| atg cgt aca ctg gag gag ctg aac ctg agc tat aat ggt atc acc act | | | | 496 |
| Met Arg Thr Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Thr | | | | |
| | 125 | 130 | 135 | |
| gtg ccc cga ctg ccc agc tcc ctg gtg aat ctg agc ctg agc cac acc | | | | 544 |
| Val Pro Arg Leu Pro Ser Ser Leu Val Asn Leu Ser Leu Ser His Thr | | | | |
| | 140 | 145 | 150 | |
| aac atc ctg gtt cta gat gct aac agc ctc gcc ggc cta tac agc ctg | | | | 592 |
| Asn Ile Leu Val Leu Asp Ala Asn Ser Leu Ala Gly Leu Tyr Ser Leu | | | | |
| | 155 | 160 | 165 | |
| cgc gtt ctc ttc atg gac ggg aac tgc tac tac aag aac ccc tgc aca | | | | 640 |
| Arg Val Leu Phe Met Asp Gly Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Thr | | | | |
| 170 | 175 | 180 | 185 | |
| gga gcg gtg aag gtg acc cca ggc gcc ctc ctg ggc ctg agc aat ctc | | | | 688 |
| Gly Ala Val Lys Val Thr Pro Gly Ala Leu Leu Gly Leu Ser Asn Leu | | | | |
| | 190 | 195 | 200 | |

4 2 / 8 8

| | |
|---|------|
| acc cat ctg tct ctg aag tat aac aac ctc aca aag gtg ccc cgc caa | 736 |
| Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn Asn Leu Thr Lys Val Pro Arg Gln | |
| 205 210 215 | |
| ctg ccc ccc agc ctg gag tac ctc ctg gtg tcc tat aac ctc att gtc | 784 |
| Leu Pro Pro Ser Leu Glu Tyr Leu Leu Val Ser Tyr Asn Leu Ile Val | |
| 220 225 230 | |
| aag ctg ggg cct gaa gac ctg gcc aat ctg acc tcc ctt cga gta ctt | 832 |
| Lys Leu Gly Pro Glu Asp Leu Ala Asn Leu Thr Ser Leu Arg Val Leu | |
| 235 240 245 | |
| gat gtg ggt ggg aat tgc cgt cgc tgc gac cat gcc ccc aat ccc tgt | 880 |
| Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg Cys Asp His Ala Pro Asn Pro Cys | |
| 250 255 260 265 | |
| ata gaa tgt ggc caa aag tcc ctc cac ctg cac cct gag acc ttc cat | 928 |
| Ile Glu Cys Gly Gln Lys Ser Leu His Leu His Pro Glu Thr Phe His | |
| 270 275 280 | |
| cac ctg agc cat ctg gaa ggc ctg gtg ctg aag gac agc tct ctc cat | 976 |
| His Leu Ser His Leu Glu Gly Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu His | |
| 285 290 295 | |
| aca ctg aac tct tcc tgg ttc caa ggt ctg gtc aac ctc tgc gtg ctg | 1024 |
| Thr Leu Asn Ser Ser Trp Phe Gln Gly Leu Val Asn Leu Ser Val Leu | |

4 3 / 8 8

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 300 | 305 | 310 | |
| gac cta agc gag aac ttt ctc tat gaa agc atc aac cac acc aat gcc | | | 1072 |
| Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr Glu Ser Ile Asn His Thr Asn Ala | | | |
| 315 | 320 | 325 | |
| ttt cag aac cta acc cgc ctg cgc aag ctc aac ctg tcc ttc aat tac | | | 1120 |
| Phe Gln Asn Leu Thr Arg Leu Arg Lys Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr | | | |
| 330 | 335 | 340 | 345 |
| cgc aag aag gta tcc ttt gcc cgc ctc cac ctg gca agt tcc ttc aag | | | 1168 |
| Arg Lys Lys Val Ser Phe Ala Arg Leu His Leu Ala Ser Ser Phe Lys | | | |
| 350 | 355 | 360 | |
| aac ctg gtg tca ctg cag gag ctg aac atg aac ggc atc ttc ttc cgc | | | 1216 |
| Asn Leu Val Ser Leu Gln Glu Leu Asn Met Asn Gly Ile Phe Phe Arg | | | |
| 365 | 370 | 375 | |
| tcg ctc aac aag tac acg ctc aga tgg ctg gcc gat ctg ccc aaa ctc | | | 1264 |
| Ser Leu Asn Lys Tyr Thr Leu Arg Trp Leu Ala Asp Leu Pro Lys Leu | | | |
| 380 | 385 | 390 | |
| cac act ctg cat ctt caa atg aac ttc atc aac cag gca cag ctc agc | | | 1312 |
| His Thr Leu His Leu Gln Met Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser | | | |
| 395 | 400 | 405 | |

| | |
|--|------|
| atc ttt ggt acc ttc cga gcc ctt cgc ttt gtg gac ttg tca gac aat | 1360 |
| Ile Phe Gly Thr Phe Arg Ala Leu Arg Phe Val Asp Leu Ser Asp Asn | |
| 410 415 420 425 | |
| cgc atc agt ggg cct tca acg ctg tca gaa gcc acc cct gaa gag gca | 1408 |
| Arg Ile Ser Gly Pro Ser Thr Leu Ser Glu Ala Thr Pro Glu Glu Ala | |
| 430 435 440 | |
| gat gat gca gag cag gag gag ctg ttg tct gcg gat cct cac cca gct | 1456 |
| Asp Asp Ala Glu Gln Glu Glu Leu Leu Ser Ala Asp Pro His Pro Ala | |
| 445 450 455 | |
| cca ctg agc acc cct gct tct aag aac ttc atg gac agg tgt aag aac | 1504 |
| Pro Leu Ser Thr Pro Ala Ser Lys Asn Phe Met Asp Arg Cys Lys Asn | |
| 460 465 470 | |
| ttc aag ttc acc atg gac ctg tct cgg aac aac ctg gtg act atc aag | 1552 |
| Phe Lys Phe Thr Met Asp Leu Ser Arg Asn Asn Leu Val Thr Ile Lys | |
| 475 480 485 | |
| cca gag atg ttt gtc aat ctc tca cgc ctc cag tgt ctt agc ctg agc | 1600 |
| Pro Glu Met Phe Val Asn Leu Ser Arg Leu Gln Cys Leu Ser Leu Ser | |
| 490 495 500 505 | |
| cac aac tcc att gca cag gct gtc aat ggc tct cag ttc ctg ccg ctg | 1648 |
| His Asn Ser Ile Ala Gln Ala Val Asn Gly Ser Gln Phe Leu Pro Leu | |

4 5 / 8 8

510

515

520

act aat ctg cag gtg ctg gac ctg tcc cat aac aaa ctg gac ttg tac 1696

Thr Asn Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr

525

530

535

cac tgg aaa tcg ttc agt gag cta cca cag ttg cag gcc ctg gac ctg 1744

His Trp Lys Ser Phe Ser Glu Leu Pro Gln Leu Gln Ala Leu Asp Leu

540

545

550

ggc tac aac agc cag ccc ttt agc ata aag ggt ata ggc cac aat ttc 1792

Gly Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Ser Ile Lys Gly Ile Gly His Asn Phe

555

560

565

agt ttt gtg gcc cat ctg tcc atg cta cac agc ctt agc ctg gca cac 1840

Ser Phe Val Ala His Leu Ser Met Leu His Ser Leu Ser Leu Ala His

570

575

580

585

aat gac att cat acc cgt gtg tcc tca cat ctc aac agc aac tca gtg 1888

Asn Asp Ile His Thr Arg Val Ser Ser His Leu Asn Ser Asn Ser Val

590

595

600

agg ttt ctt gac ttc agc ggc aac ggt atg ggc cgc atg tgg gat gag 1936

Arg Phe Leu Asp Phe Ser Gly Asn Gly Met Gly Arg Met Trp Asp Glu

605

610

615

46 / 88

ggg ggc ctt tat ctc cat ttc ttc caa ggc ctg agt ggc ctg ctg aag 1984
Gly Gly Leu Tyr Leu His Phe Phe Gln Gly Leu Ser Gly Leu Leu Lys

620

625

630

ctg gac ctg tct caa aat aac ctg cat atc ctc cgg ccc cag aac ctt 2032
Leu Asp Leu Ser Gln Asn Asn Leu His Ile Leu Arg Pro Gln Asn Leu

635

640

645

gac aac ctc ccc aag agc ctg aag ctg ctg agc ctc cga gac aac tac 2080
Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu Lys Leu Leu Ser Leu Arg Asp Asn Tyr

650

655

660

665

cta tct ttc ttt aac tgg acc agt ctg tcc ttc ctg ccc aac ctg gaa 2128
Leu Ser Phe Phe Asn Trp Thr Ser Leu Ser Phe Leu Pro Asn Leu Glu

670

675

680

gtc cta gac ctg gca ggc aac cag cta aag gcc ctg acc aat ggc acc 2176
Val Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu Lys Ala Leu Thr Asn Gly Thr

685

690

695

ctg cct aat ggc acc ctc ctc cag aaa ctg gat gtc agc agc aac agt 2224
Leu Pro Asn Gly Thr Leu Leu Gln Lys Leu Asp Val Ser Ser Asn Ser

700

705

710

atc gtc tct gtg gtc cca gcc ttc ttc gct ctg gcg gtc gag ctg aaa 2272
Ile Val Ser Val Val Pro Ala Phe Phe Ala Leu Ala Val Glu Leu Lys

47 / 88

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 715 | 720 | 725 | |
| gag gtc aac ctc agc cac aac att ctc aag acg gtg gat cgc tcc tgg | | | 2320 |
| Glu Val Asn Leu Ser His Asn Ile Leu Lys Thr Val Asp Arg Ser Trp | | | |
| 730 | 735 | 740 | 745 |
| ttt ggg ccc att gtg atg aac ctg aca gtt cta gac gtg aga agc aac | | | 2368 |
| Phe Gly Pro Ile Val Met Asn Leu Thr Val Leu Asp Val Arg Ser Asn | | | |
| | 750 | 755 | 760 |
| cct ctg cac tgt gcc tgt ggg gca gcc ttc gta gac tta ctg ttg gag | | | 2416 |
| Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Ala Phe Val Asp Leu Leu Leu Glu | | | |
| | 765 | 770 | 775 |
| gtg cag acc aag gtg cct ggc ctg gct aat ggt gtg aag tgt ggc agc | | | 2464 |
| Val Gln Thr Lys Val Pro Gly Leu Ala Asn Gly Val Lys Cys Gly Ser | | | |
| | 780 | 785 | 790 |
| ccc ggc cag ctg cag ggc cgt agc atc ttc gca cag gac ctg cgg ctg | | | 2512 |
| Pro Gly Gln Leu Gln Gly Arg Ser Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu | | | |
| | 795 | 800 | 805 |
| tgc ctg gat gag gtc ctc tct tgg gac tgc ttt ggc ctt tca ctc ttg | | | 2560 |
| Cys Leu Asp Glu Val Leu Ser Trp Asp Cys Phe Gly Leu Ser Leu Leu | | | |
| 810 | 815 | 820 | 825 |

48 / 88

gct gtc gcc gtg ggc atg gtg gtg cct ata ctg cac cat ctc tgc ggc 2608
 Ala Val Ala Val Gly Met Val Val Pro Ile Leu His His Leu Cys Gly

830

835

840

tgg gac gtc tgg tac tgt ttt cat ctg tgc ctg gca tgg cta cct ttg 2656
 Trp Asp Val Trp Tyr Cys Phe His Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Leu

845

850

855

ctg gcc cgc agc cga cgc agc gcc caa gct ctc ccc tat gat gcc ttc 2704
 Leu Ala Arg Ser Arg Arg Ser Ala Gln Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe

860

865

870

gtg gtg ttc gat aag gca cag agc gca gtt gcg gac tgg gtg tat aac 2752
 Val Val Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn

875

880

885

gag ctg cgg gtg cgg ctg gag ggg cgg cgc ggt cgc cga gcc cta cgc 2800
 Glu Leu Arg Val Arg Leu Glu Gly Arg Arg Gly Arg Arg Ala Leu Arg

890

895

900

905

ttg tgt ctg gag gac cga gat tgg ctg cct ggc cag acg ctc ttc gag 2848
 Leu Cys Leu Glu Asp Arg Asp Trp Leu Pro Gly Gln Thr Leu Phe Glu

910

915

920

aac ctc tgg gct tcc atc tat ggg agc cgc aag act cta ttt gtg ctg 2896
 Asn Leu Trp Ala Ser Ile Tyr Gly Ser Arg Lys Thr Leu Phe Val Leu

49 / 88

| | | | |
|---|------|------|------|
| 925 | 930 | 935 | |
| gcc cac acg gac cgc gtc agt ggc ctc ctg cgc acc agc ttc ctg ctg | | | 2944 |
| Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu Arg Thr Ser Phe Leu Leu | | | |
| 940 | 945 | 950 | |
| gct cag cag cgc ctg ttg gaa gac cgc aag gac gtg gtg gtg ttg gtg | | | 2992 |
| Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys Asp Val Val Val Leu Val | | | |
| 955 | 960 | 965 | |
| atc ctg cgt ccg gat gcc cac cgc tcc cgc tat gtg cga ctg cgc cag | | | 3040 |
| Ile Leu Arg Pro Asp Ala His Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln | | | |
| 970 | 975 | 980 | 985 |
| cgt ctc tgc cgc cag agt gtg ctc ttt tgg ccc cag cag ccc aac ggg | | | 3088 |
| Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Phe Trp Pro Gln Gln Pro Asn Gly | | | |
| 990 | 995 | 1000 | |
| cag ggg ggc ttc tgg gcc cag ctg agt aca gcc ctg act agg gac | | | 3133 |
| Gln Gly Gly Phe Trp Ala Gln Leu Ser Thr Ala Leu Thr Arg Asp | | | |
| 1005 | 1010 | 1015 | |
| aac cgc cac ttc tat aac cag aac ttc tgc cgg gga cct aca gca | | | 3178 |
| Asn Arg His Phe Tyr Asn Gln Asn Phe Cys Arg Gly Pro Thr Ala | | | |
| 1020 | 1025 | 1030 | |

5 0 / 8 8

gaa tag ctcagagcaa cagctggaaa cagctgcata ttcatgcctg gttcccgagt 3234
Glu

tgctctgcct gccctgctct gtcttactac accgctatit ggcaagtgcg caatatatgc 3294

taccâagcca ccgggcccac ggagcaaagg ttggctgtaa agggta 3340

<210> 6

<211> 1032

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 6

Met Val Leu Arg Arg Arg Thr Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln

1 5 10 15

Ala Ala Val Leu Ala Glu Thr Leu Ala Leu Gly Thr Leu Pro Ala Phe

20 25 30

Leu Pro Cys Glu Leu Lys Pro His Gly Leu Val Asp Cys Asn Trp Leu

35 40 45

Phe Leu Lys Ser Val Pro Arg Phe Ser Ala Ala Ala Ser Cys Ser Asn

50 55 60

51 / 88

Ile Thr Arg Leu Ser Leu Ile Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asn
65 70 75 80

Ser Asp Phe Val His Leu Ser Asn Leu Arg Gln Leu Asn Leu Lys Trp
85 90 95

Asn Cys Pro Pro Thr Gly Leu Ser Pro Leu His Phe Ser Cys His Met
100 105 110

Thr Ile Glu Pro Arg Thr Phe Leu Ala Met Arg Thr Leu Glu¹Glu Leu
115 120 125

Asn Leu Ser Tyr Asn Gly Ile Thr Thr Val Pro Arg Leu Pro Ser Ser
130 135 140

Leu Val Asn Leu Ser Leu Ser His Thr Asn Ile Leu Val Leu Asp Ala
145 150 155 160

Asn Ser Leu Ala Gly Leu Tyr Ser Leu Arg Val Leu Phe Met Asp Gly
165 170 175

Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Thr Gly Ala Val Lys Val Thr Pro
180 185 190

Gly Ala Leu Leu Gly Leu Ser Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr

52/88

195

200

205

Asn Asn Leu Thr Lys Val Pro Arg Gln Leu Pro Pro Ser Leu Glu Tyr

210

215

220

Leu Leu Val Ser Tyr Asn Leu Ile Val Lys Leu Gly Pro Glu Asp Leu

225

230

235

240

Ala Asn Leu Thr Ser Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg

245

250

255

Arg Cys Asp His Ala Pro Asn Pro Cys Ile Glu Cys Gly Gln Lys Ser

260

265

270

Leu His Leu His Pro Glu Thr Phe His His Leu Ser His Leu Glu Gly

275

280

285

Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu His Thr Leu Asn Ser Ser Trp Phe

290

295

300

Gln Gly Leu Val Asn Leu Ser Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu

305

310

315

320

Tyr Glu Ser Ile Asn His Thr Asn Ala Phe Gln Asn Leu Thr Arg Leu

325

330

335

53 / 88

Arg Lys Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr Arg Lys Lys Val Ser Phe Ala
340 345 350

Arg Leu His Leu Ala Ser Ser Phe Lys Asn Leu Val Ser Leu Gln Glu
355 360 365

Leu Asn Met Asn Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Asn Lys Tyr Thr Leu
370 375 380

Arg Trp Leu Ala Asp Leu Pro Lys Leu His Thr Leu His Leu Gln Met
385 390 395 400

Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser Ile Phe Gly Thr Phe Arg Ala
405 410 415

Leu Arg Phe Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Pro Ser Thr
420 425 430

Leu Ser Glu Ala Thr Pro Glu Glu Ala Asp Asp Ala Glu Gln Glu Glu
435 440 445

Leu Leu Ser Ala Asp Pro His Pro Ala Pro Leu Ser Thr Pro Ala Ser
450 455 460

Lys Asn Phe Met Asp Arg Cys Lys Asn Phe Lys Phe Thr Met Asp Leu
465 470 475 480

5 4 / 8 8

Ser Arg Asn Asn Leu Val Thr Ile Lys Pro Glu Met Phe Val Asn Leu

485

490

495

Ser Arg Leu Gln Cys Leu Ser Leu Ser His Asn Ser Ile Ala Gln Ala

500

505

510

Val Asn Gly Ser Gln Phe Leu Pro Leu Thr Asn Leu Gln Val Leu Asp

515

520

525

Leu Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Trp Lys Ser Phe Ser Glu

530

535

540

Leu Pro Gln Leu Gln Ala Leu Asp Leu Gly Tyr Asn Ser Gln Pro Phe

545

550

555

560

Ser Ile Lys Gly Ile Gly His Asn Phe Ser Phe Val Ala His Leu Ser

565

570

575

Met Leu His Ser Leu Ser Leu Ala His Asn Asp Ile His Thr Arg Val

580

585

590

Ser Ser His Leu Asn Ser Asn Ser Val Arg Phe Leu Asp Phe Ser Gly

595

600

605

Asn Gly Met Gly Arg Met Trp Asp Glu Gly Gly Leu Tyr Leu His Phe

5 5 / 8 8

610

615

620

Phe Gln Gly Leu Ser Gly Leu Leu Lys Leu Asp Leu Ser Gln Asn Asn

625

630

635

640

Leu His Ile Leu Arg Pro Gln Asn Leu Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu

645

650

655

Lys Leu Leu Ser Leu Arg Asp Asn Tyr Leu Ser Phe Phe Asn Trp Thr

660

665

670

Ser Leu Ser Phe Leu Pro Asn Leu Glu Val Leu Asp Leu Ala Gly Asn

675

680

685

Gln Leu Lys Ala Leu Thr Asn Gly Thr Leu Pro Asn Gly Thr Leu Leu

690

695

700

Gln Lys Leu Asp Val Ser Ser Asn Ser Ile Val Ser Val Val Pro Ala

705

710

715

720

Phe Phe Ala Leu Ala Val Glu Leu Lys Glu Val Asn Leu Ser His Asn

725

730

735

Ile Leu Lys Thr Val Asp Arg Ser Trp Phe Gly Pro Ile Val Met Asn

740

745

750

5 6 / 8 8

Leu Thr Val Leu Asp Val Arg Ser Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly
755 760 765

Ala Ala Phe Val Asp Leu Leu Leu Glu Val Gln Thr Lys Val Pro Gly
770 775 780

Leu Ala Asn Gly Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly Arg
785 790 795 800

Ser Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Val Leu Ser
805 810 815

Trp Asp Cys Phe Gly Leu Ser Leu Leu Ala Val Ala Val Gly Met Val
820 825 830

Val Pro Ile Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Val Trp Tyr Cys Phe
835 840 845

His Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Leu Leu Ala Arg Ser Arg Arg Ser
850 855 860

Ala Gln Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Ala Gln
865 870 875 880

Ser Ala Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Val Arg Leu Glu
885 890 895

57 / 88

Gly Arg Arg Gly Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Asp Arg Asp

900

905

910

Trp Leu Pro Gly Gln Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Ile Tyr

915

920

925

Gly Ser Arg Lys Thr Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser

930

935

940

Gly Leu Leu Arg Thr Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu

945

950

955

960

Asp Arg Lys Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu Arg Pro Asp Ala His

965

970

975

Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val

980

985

990

Leu Phe Trp Pro Gln Gln Pro Asn Gly Gln Gly Gly Phe Trp Ala Gln

995

1000

1005

Leu Ser Thr Ala Leu Thr Arg Asp Asn Arg His Phe Tyr Asn Gln

1010

1015

1020

Asn Phe Cys Arg Gly Pro Thr Ala Glu

5 8 / 8 8

1025

1030

<210> 7

<211> 3332

<212> DNA

<213> Felis Catus

<220>

<221> misc_feature

<222> (1952).. (1952)

<223> "n"=A, T, G or C

<220>

<221> CDS

<222> (88).. (3183)

<223>

<400> 7

aagggtctgc gagctccagg cattcttctc tgccatcgct gcccagtcgt ccatccagac 60

cctctggaga agccccact ccctgtc atg ggc ccc tgc cat ggc gcc ctg cac 114

Met Gly Pro Cys His Gly Ala Leu His

1

5

59/88

| | |
|--|-----|
| ccc ctg tct ctc ctg gtg cag gct gcc gcg ctg gcc gtg gcc ctg gcc | 162 |
| Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln Ala Ala Ala Leu Ala Val Ala Leu Ala | |
| 10 15 20 25 | |
| cag ggc acc ctg cct gcc ttt ctg ccc tgt gag ctc cag cgc cac ggc | 210 |
| Gln Gly Thr Leu Pro Ala Phe Leu Pro Cys Glu Leu Gln Arg His Gly | |
| 30 35 40 | |
| ctg gtg aat tgc gac tgg ctg ttc ctc aag tcc gtg ccc cac ttc tcg | 258 |
| Leu Val Asn Cys Asp Trp Leu Phe Leu Lys Ser Val Pro His Phe Ser | |
| 45 50 55 | |
| gcg gca gcg ccc cgt ggt aac gtc acc agc ctt tcc ctg tac tcc aac | 306 |
| Ala Ala Ala Pro Arg Gly Asn Val Thr Ser Leu Ser Leu Tyr Ser Asn | |
| 60 65 70 | |
| cgc atc cac cac ctc cac gac tcc gac ttt gtc cac ctg tcc agc ctg | 354 |
| Arg Ile His His Leu His Asp Ser Asp Phe Val His Leu Ser Ser Leu | |
| 75 80 85 | |
| cgg cgt ctc aac ctc aaa tgg aac tgc cca ccc gcc agc ctc agc ccc | 402 |
| Arg Arg Leu Asn Leu Lys Trp Asn Cys Pro Pro Ala Ser Leu Ser Pro | |
| 90 95 100 105 | |
| atg cac ttc ccc tgt cac atg acc att gag ccc cac acc ttc ctg gcc | 450 |
| Met His Phe Pro Cys His Met Thr Ile Glu Pro His Thr Phe Leu Ala | |

6 0 / 8 8

| | | | |
|---|-----|-----|-----|
| 110 | 115 | 120 | |
| gtg ccc acc ctg gag gag ctg aac ctg agc tac aac agc atc acg aca 498 | | | |
| Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu Asn Leu Ser Tyr Asn Ser Ile Thr Thr | | | |
| 125 | 130 | 135 | |
| gta ccc gcc ctg ccc agt tcc ctc gtg tcc ctg tcc ttg agc cgt acc 546 | | | |
| Val Pro Ala Leu Pro Ser Ser Leu Val Ser Leu Ser Leu Ser Arg Thr | | | |
| 140 | 145 | 150 | |
| aac atc ctg gtg ctg gac cct gcc aac ctc gca ggg ctg cac tcc ctg 594 | | | |
| Asn Ile Leu Val Leu Asp Pro Ala Asn Leu Ala Gly Leu His Ser Leu | | | |
| 155 | 160 | 165 | |
| cgc ttt ctg ttc ctg gat ggc aac tgc tac tat aag aac ccc tgc ccg 642 | | | |
| Arg Phe Leu Phe Leu Asp Gly Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Pro | | | |
| 170 | 175 | 180 | 185 |
| cag gcc ctg cag gtg gcc ccg ggc gcc ctc ctt ggc ctg ggc aac ctt 690 | | | |
| Gln Ala Leu Gln Val Ala Pro Gly Ala Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu | | | |
| 190 | 195 | 200 | |
| acg cac ctg tca ctc aag tac aac aac ctc act gcg gtg ccc cgc ggc 738 | | | |
| Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr Asn Asn Leu Thr Ala Val Pro Arg Gly | | | |
| 205 | 210 | 215 | |

61 / 88

| | |
|---|------|
| ctg ccc ccc agc ctg gag tac ctg cta ttg tcc tac aac cac atc atc | 786 |
| Leu Pro Pro Ser Leu Glu Tyr Leu Leu Leu Ser Tyr Asn His Ile Ile | |
| 220 225 230 | |
| acc ctg gca cct gag gac ctg gcc aac ctg acc gcc ctg cgt gtg ctc | 834 |
| Thr Leu Ala Pro Glu Asp Leu Ala Asn Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu | |
| 235 240 245 | |
| gat gtg ggt gga aac tgc cgt cgc tgt gac cac gcc cgc aac ccc tgt | 882 |
| Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg Arg Cys Asp His Ala Arg Asn Pro Cys | |
| 250 255 260 265 | |
| atg gag tgc ccc aag ggc ttc ccg cac ctg cac cct gac acc ttc agc | 930 |
| Met Glu Cys Pro Lys Gly Phe Pro His Leu His Pro Asp Thr Phe Ser | |
| 270 275 280 | |
| cac ctg aac cac ctc gaa ggc ctg gtg ttg aag gac agc tct ctc tac | 978 |
| His Leu Asn His Leu Glu Gly Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu Tyr | |
| 285 290 295 | |
| aac ctg aac ccc aga tgg ttc cat gcc ctg ggc aac ctc atg gtg ctg | 1026 |
| Asn Leu Asn Pro Arg Trp Phe His Ala Leu Gly Asn Leu Met Val Leu | |
| 300 305 310 | |
| gac ctg agt gag aac ttc cta tat gac tgc atc acc aaa acc aca gcc | 1074 |
| Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu Tyr Asp Cys Ile Thr Lys Thr Thr Ala | |

6 2 / 8 8

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 315 | 320 | 325 | |
| ttc cag ggc ctg gcc cag ctg cgc aga ctc aac ttg tct ttc aat tac | | | 1122 |
| Phe Gln Gly Leu Ala Gln Leu Arg Arg Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr | | | |
| 330 | 335 | 340 | 345 |
| cac aag aag gtg tcc ttt gcc cac ctg cat ctg gcg ccc tcc ttc ggg | | | 1170 |
| His Lys Lys Val Ser Phe Ala His Leu His Leu Ala Pro Ser Phe Gly | | | |
| | 350 | 355 | 360 |
| agc ctg ctc tcc ctg cag cag ctg gac atg cat ggc atc ttc ttc cgc | | | 1218 |
| Ser Leu Leu Ser Leu Gln Gln Leu Asp Met His Gly Ile Phe Phe Arg | | | |
| | 365 | 370 | 375 |
| tcg ctc agc gag acc acg ctc cgg tcg ctg gtc cac ctg ccc atg ctc | | | 1266 |
| Ser Leu Ser Glu Thr Thr Leu Arg Ser Leu Val His Leu Pro Met Leu | | | |
| | 380 | 385 | 390 |
| cag agt ctg cac ctg cag atg aac ttc atc aat cag gcc cag ctc agc | | | 1314 |
| Gln Ser Leu His Leu Gln Met Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser | | | |
| | 395 | 400 | 405 |
| atc ttc ggg gcc ttc cct ggc ctg cga tac gtg gac ctg tca gac aac | | | 1362 |
| Ile Phe Gly Ala Phe Pro Gly Leu Arg Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn | | | |
| 410 | 415 | 420 | 425 |

6 3 / 8 8

| | |
|---|------|
| cgc ata agt gga gcc atg gag ctg gcg gct gcc acg ggg gag gtg gat | 1410 |
| Arg Ile Ser Gly Ala Met Glu Leu Ala Ala Ala Thr Gly Glu Val Asp | |
| 430 435 440 | |
| ggt ggg gag aga gtc cgg ctg cca tct ggg gac cta gct ctg ggc cca | 1458 |
| Gly Gly Glu Arg Val Arg Leu Pro Ser Gly Asp Leu Ala Leu Gly Pro | |
| 445 450 455 | |
| ccg ggc acc cct agc tcc gag ggc ttc atg cca ggc tgc aag acc ctc | 1506 |
| Pro Gly Thr Pro Ser Ser Glu Gly Phe Met Pro Gly Cys Lys Thr Leu | |
| 460 465 470 | |
| aac ttc acc ttg gac ctg tca cgg aac aac cta gtg aca atc cag cca | 1554 |
| Asn Phe Thr Leu Asp Leu Ser Arg Asn Asn Leu Val Thr Ile Gln Pro | |
| 475 480 485 | |
| gag atg ttt gcc cgg ctc tcg cgc ctc cag tgc ctg ctc ctg agc cgc | 1602 |
| Glu Met Phe Ala Arg Leu Ser Arg Leu Gln Cys Leu Leu Leu Ser Arg | |
| 490 495 500 505 | |
| aac agc atc tcg cag gca gtc aac ggc tca caa ttt atg ccg ctg acc | 1650 |
| Asn Ser Ile Ser Gln Ala Val Asn Gly Ser Gln Phe Met Pro Leu Thr | |
| 510 515 520 | |
| agc ctg cag gtg ctg gac ctg tcc cat aac aag ctg gac ctg tac cat | 1698 |
| Ser Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His | |

6 4 / 8 8

| | | | |
|---|-----|-----|------|
| 525 | 530 | 535 | |
| ggg cgc tct ttc acg gag ctg ccg cgg ctg gag gcc ctg gac ctc agc | | | 1746 |
| Gly Arg Ser Phe Thr Glu Leu Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser | | | |
| 540 | 545 | 550 | |
| tac aac agc cag ccc ttc agc atg cag ggc gtg ggt cac aac ctc agc | | | 1794 |
| Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Ser Met Gln Gly Val Gly His Asn Leu Ser | | | |
| 555 | 560 | 565 | |
| ttt gtg gca cag ctg ccg gcc ctg cgc tat ctc agc ctg gcg cac aac | | | 1842 |
| Phe Val Ala Gln Leu Pro Ala Leu Arg Tyr Leu Ser Leu Ala His Asn | | | |
| 570 | 575 | 580 | 585 |
| gac atc cac agc cgt gtg tcc cag cag ctc tgc agc gcc tcg ctg cgg | | | 1890 |
| Asp Ile His Ser Arg Val Ser Gln Gln Leu Cys Ser Ala Ser Leu Arg | | | |
| 590 | 595 | 600 | |
| gcc ttg gac ttc agc ggc aat gcc ttg agc cgg atg tgg gcc gag gga | | | 1938 |
| Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn Ala Leu Ser Arg Met Trp Ala Glu Gly | | | |
| 605 | 610 | 615 | |
| gac ctg tat ctc cnc ttc ttc cga ggc ctg agg agc ctg gtc cgg ttg | | | 1986 |
| Asp Leu Tyr Leu Xaa Phe Phe Arg Gly Leu Arg Ser Leu Val Arg Leu | | | |
| 620 | 625 | 630 | |

6 5 / 8 8

gat ctg tcc cag aat cgc ctg cat acc ctc ttg cca cgc acc ctg gac 2034

Asp Leu Ser Gln Asn Arg Leu His Thr Leu Leu Pro Arg Thr Leu Asp

635

640

645

aac ctc ccc aag agc ctg cgg ctg ctg cgt ctc cgt gac aat tat ctg 2082

Asn Leu Pro Lys Ser Leu Arg Leu Leu Arg Leu Arg Asp Asn Tyr Leu

650

655

660

665

gct ttc ttc aac tgg agc agc ctg gtc ctc ctc ccc agg ctg gaa gcc 2130

Ala Phe Phe Asn Trp Ser Ser Leu Val Leu Leu Pro Arg Leu Glu Ala

670

675

680

ctg gac ctg gcg gga aac cag ctg aag gcc ctg agc aac ggc agc ttg 2178

Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln Leu Lys Ala Leu Ser Asn Gly Ser Leu

685

690

695

cct aat gga acc cag ctc cag agg ctg gac ctc agc agc aac agt atc 2226

Pro Asn Gly Thr Gln Leu Gln Arg Leu Asp Leu Ser Ser Asn Ser Ile

700

705

710

agc ttc gtg gcc tcc agc ttt ttt gct ctg gcc acc agg ctg cga gag 2274

Ser Phe Val Ala Ser Ser Phe Phe Ala Leu Ala Thr Arg Leu Arg Glu

715

720

725

ctc aac ctc agt gcc aac gcc ctc aag acg gtg gag ccc tcc tgg ttc 2322

Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala Leu Lys Thr Val Glu Pro Ser Trp Phe

6 6 / 8 8

| | | | | |
|--|-----|-----|-----|------|
| 730 | 735 | 740 | 745 | |
| ggt tct cta gcg ggc acc ctg aaa gtc cta gat gtg act ggc aac ccc Gly Ser Leu Ala Gly Thr Leu Lys Val Leu Asp Val Thr Gly Asn Pro | | | | 2370 |
| | 750 | 755 | 760 | |
| ctg cac tgc gcc tgc ggg ggc gcc ttc gtg gac ttc ttg ctg gag gtg Leu His Cys Ala Cys Gly Ala Ala Phe Val Asp Phe Leu Leu Glu Val | | | | 2418 |
| | 765 | 770 | 775 | |
| cag gct gca gtg ccc ggc ctg cca ggc cac gtc aag tgt ggc agt cca Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu Pro Gly His Val Lys Cys Gly Ser Pro | | | | 2466 |
| | 780 | 785 | 790 | |
| ggt cag ctc cag ggc cgc agc atc ttt gcg cag gat ctg cgc ctc tgc Gly Gln Leu Gln Gly Arg Ser Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys | | | | 2514 |
| | 795 | 800 | 805 | |
| ctg gat gag gcc ctc tcc tgg gac tgt ttt ggc ctc tcg ctg ctg acc Leu Asp Glu Ala Leu Ser Trp Asp Cys Phe Gly Leu Ser Leu Leu Thr | | | | 2562 |
| 810 | 815 | 820 | 825 | |
| gtg gcc ctg ggc ctg gcc gtg ccc atg ctg cac cac ctc tgt ggc tgg Val Ala Leu Gly Leu Ala Val Pro Met Leu His His Leu Cys Gly Trp | | | | 2610 |
| | 830 | 835 | 840 | |

6 7 / 8 8

gac ctc tgg tac tgc ttc cac ctg tgc ctg gcc tgg ctg ccc cgg cgg 2658

Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Arg Arg

845

850

855

ggg cgg cgg cgg ggc gcg gat gcc ctg ccc tac gat gcc ttt gtg gtc 2706

Gly Arg Arg Arg Gly Ala Asp Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe Val Val

860

865

870

ttc gac aag gca cag agc gcg gtg gcc gac tgg gtg tac aac gag ctg 2754

Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu

875

880

885

cgg gla cgg cta gag gag cgc cgt gga cgc cga gcg ctc cgc ctg tgc 2802

Arg Val Arg Leu Glu Glu Arg Arg Gly Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys

890

895

900

905

ctg gag gaa cgt gac tgg cta ccc ggt aaa acg ctc ttt gag aac ctg 2850

Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu Pro Gly Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu

910

915

920

tgg gcc tca gtt tac agc agc cgc aag atg ctg ttt gtg ctg gcc cac 2898

Trp Ala Ser Val Tyr Ser Ser Arg Lys Met Leu Phe Val Leu Ala His

925

930

935

aca gac agg gtc agc ggc ctc ttg cgc gcc agc ttt ctg ctg gcc cag 2946

Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu Leu Arg Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln

6 8 / 8 8

| | | | |
|---|------|------|------|
| 940 | 945 | 950 | |
| cag cgc ctg ctg gag gac cgc aag gac gtt gtg gtg ctg gtg atc ctg | | | 2994 |
| Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg Lys Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu | | | |
| 955 | 960 | 965 | |
| cgc ccc gac gcc cac cgc tcc cgc tat gtg cgg ctg cgc cag cgc ctc | | | 3042 |
| Arg Pro Asp Ala His Arg Ser Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu | | | |
| 970 | 975 | 980 | 985 |
| tgc cgc cag agc gtc ctc ctc tgg ccc cac cag ccc agt ggc cag cgc | | | 3090 |
| Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu Trp Pro His Gln Pro Ser Gly Gln Arg | | | |
| 990 | 995 | 1000 | |
| agc ttc tgg gcc cag ctg ggc acg gcc ctg acc agg gac aac cag | | | 3135 |
| Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly Thr Ala Leu Thr Arg Asp Asn Gln | | | |
| 1005 | 1010 | 1015 | |
| cac ttc tat aac cag aac ttc tgc cgg ggc ccc acg acg gca gag | | | 3180 |
| His Phe Tyr Asn Gln Asn Phe Cys Arg Gly Pro Thr Thr Ala Glu | | | |
| 1020 | 1025 | 1030 | |
| tga ccgcccagca ccccaagcct cctacacctt gcctgtctgc ctgggatgcc | | | 3233 |
| gggcctgctg gccctgcaac accactgctc tgcctcccca actcccaccc ctggcatata | | | 3293 |

6 9 / 8 8

gcagatgctc aataaatgct actagtaggc tgaacggct

3332

<210> 8

<211> 1031

<212> PRT

<213> Felis Catus

<220>

<221> misc_feature

<222> (622).. (622)

<223> The 'Xaa' at location 622 stands for His, Arg, Pro, or Leu.

<400> 8

Met Gly Pro Cys His Gly Ala Leu His Pro Leu Ser Leu Leu Val Gln

1 5 10 15

Ala Ala Ala Leu Ala Val Ala Leu Ala Gln Gly Thr Leu Pro Ala Phe

20 25 30

Leu Pro Cys Glu Leu Gln Arg His Gly Leu Val Asn Cys Asp Trp Leu

35 40 45

Phe Leu Lys Ser Val Pro His Phe Ser Ala Ala Ala Pro Arg Gly Asn

50 55 60

70 / 88

Val Thr Ser Leu Ser Leu Tyr Ser Asn Arg Ile His His Leu His Asp
65 70 75 80

Ser Asp Phe Val His Leu Ser Ser Leu Arg Arg Leu Asn Leu Lys Trp
85 90 95

Asn Cys Pro Pro Ala Ser Leu Ser Pro Met His Phe Pro Cys His Met
100 105 110

Thr Ile Glu Pro His Thr Phe Leu Ala Val Pro Thr Leu Glu Glu Leu
115 120 125

Asn Leu Ser Tyr Asn Ser Ile Thr Thr Val Pro Ala Leu Pro Ser Ser
130 135 140

Leu Val Ser Leu Ser Leu Ser Arg Thr Asn Ile Leu Val Leu Asp Pro
145 150 155 160

Ala Asn Leu Ala Gly Leu His Ser Leu Arg Phe Leu Phe Leu Asp Gly
165 170 175

Asn Cys Tyr Tyr Lys Asn Pro Cys Pro Gln Ala Leu Gln Val Ala Pro
180 185 190

Gly Ala Leu Leu Gly Leu Gly Asn Leu Thr His Leu Ser Leu Lys Tyr
195 200 205

71 / 88

Asn Asn Leu Thr Ala Val Pro Arg Gly Leu Pro Pro Ser Leu Glu Tyr

210

215

220

Leu Leu Leu Ser Tyr Asn His Ile Ile Thr Leu Ala Pro Glu Asp Leu

225

230

235

240

Ala Asn Leu Thr Ala Leu Arg Val Leu Asp Val Gly Gly Asn Cys Arg

245

250

255

Arg Cys Asp His Ala Arg Asn Pro Cys Met Glu Cys Pro Lys Gly Phe

260

265

270

Pro His Leu His Pro Asp Thr Phe Ser His Leu Asn His Leu Glu Gly

275

280

285

Leu Val Leu Lys Asp Ser Ser Leu Tyr Asn Leu Asn Pro Arg Trp Phe

290

295

300

His Ala Leu Gly Asn Leu Met Val Leu Asp Leu Ser Glu Asn Phe Leu

305

310

315

320

Tyr Asp Cys Ile Thr Lys Thr Thr Ala Phe Gln Gly Leu Ala Gln Leu

325

330

335

Arg Arg Leu Asn Leu Ser Phe Asn Tyr His Lys Lys Val Ser Phe Ala

7 2 / 8 8

340

345

350

His Leu His Leu Ala Pro Ser Phe Gly Ser Leu Leu Ser Leu Gln Gln

355

360

365

Leu Asp Met His Gly Ile Phe Phe Arg Ser Leu Ser Glu Thr Thr Leu

370

375

380

Arg Ser Leu Val His Leu Pro Met Leu Gln Ser Leu His Leu Gln Met

385

390

395

400

Asn Phe Ile Asn Gln Ala Gln Leu Ser Ile Phe Gly Ala Phe Pro Gly

405

410

415

Leu Arg Tyr Val Asp Leu Ser Asp Asn Arg Ile Ser Gly Ala Met Glu

420

425

430

Leu Ala Ala Ala Thr Gly Glu Val Asp Gly Gly Glu Arg Val Arg Leu

435

440

445

Pro Ser Gly Asp Leu Ala Leu Gly Pro Pro Gly Thr Pro Ser Ser Glu

450

455

460

Gly Phe Met Pro Gly Cys Lys Thr Leu Asn Phe Thr Leu Asp Leu Ser

465

470

475

480

7 3 / 8 8

Arg Asn Asn Leu Val Thr Ile Gln Pro Glu Met Phe Ala Arg Leu Ser
485 490 495

Arg Leu Gln Cys Leu Leu Leu Ser Arg Asn Ser Ile Ser Gln Ala Val
500 505 510

Asn Gly Ser Gln Phe Met Pro Leu Thr Ser Leu Gln Val Leu Asp Leu
515 520 525

Ser His Asn Lys Leu Asp Leu Tyr His Gly Arg Ser Phe Thr Glu Leu
530 535 540

Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Ser Gln Pro Phe Ser
545 550 555 560

Met Gln Gly Val Gly His Asn Leu Ser Phe Val Ala Gln Leu Pro Ala
565 570 575

Leu Arg Tyr Leu Ser Leu Ala His Asn Asp Ile His Ser Arg Val Ser
580 585 590

Gln Gln Leu Cys Ser Ala Ser Leu Arg Ala Leu Asp Phe Ser Gly Asn
595 600 605

Ala Leu Ser Arg Met Trp Ala Glu Gly Asp Leu Tyr Leu Xaa Phe Phe
610 615 620

74 / 88

Arg Gly Leu Arg Ser Leu Val Arg Leu Asp Leu Ser Gln Asn Arg Leu
625 630 635 640

His Thr Leu Leu Pro Arg Thr Leu Asp Asn Leu Pro Lys Ser Leu Arg
 645 650 655

Leu Leu Arg Leu Arg Asp Asn Tyr Leu Ala Phe Phe Asn Trp Ser Ser
 660 665 670

Leu Val Leu Leu Pro Arg Leu Glu Ala Leu Asp Leu Ala Gly Asn Gln
 675 680 685

Leu Lys Ala Leu Ser Asn Gly Ser Leu Pro Asn Gly Thr Gln Leu Gln
 690 695 700

Arg Leu Asp Leu Ser Ser Asn Ser Ile Ser Phe Val Ala Ser Ser Phe
705 710 715 720

Phe Ala Leu Ala Thr Arg Leu Arg Glu Leu Asn Leu Ser Ala Asn Ala
 725 730 735

Leu Lys Thr Val Glu Pro Ser Trp Phe Gly Ser Leu Ala Gly Thr Leu
 740 745 750

Lys Val Leu Asp Val Thr Gly Asn Pro Leu His Cys Ala Cys Gly Ala

7 5 / 8 8

755

760

765

Ala Phe Val Asp Phe Leu Leu Glu Val Gln Ala Ala Val Pro Gly Leu

770

775

780

Pro Gly His Val Lys Cys Gly Ser Pro Gly Gln Leu Gln Gly Arg Ser

785

790

795

800

Ile Phe Ala Gln Asp Leu Arg Leu Cys Leu Asp Glu Ala Leu Ser Trp

805

810

815

Asp Cys Phe Gly Leu Ser Leu Leu Thr Val Ala Leu Gly Leu Ala Val

820

825

830

Pro Met Leu His His Leu Cys Gly Trp Asp Leu Trp Tyr Cys Phe His

835

840

845

Leu Cys Leu Ala Trp Leu Pro Arg Arg Gly Arg Arg Arg Gly Ala Asp

850

855

860

Ala Leu Pro Tyr Asp Ala Phe Val Val Phe Asp Lys Ala Gln Ser Ala

865

870

875

880

Val Ala Asp Trp Val Tyr Asn Glu Leu Arg Val Arg Leu Glu Glu Arg

885

890

895

7 6 / 8 8

Arg Gly Arg Arg Ala Leu Arg Leu Cys Leu Glu Glu Arg Asp Trp Leu
900 905 910

Pro Gly Lys Thr Leu Phe Glu Asn Leu Trp Ala Ser Val Tyr Ser Ser
915 920 925

Arg Lys Met Leu Phe Val Leu Ala His Thr Asp Arg Val Ser Gly Leu
930 935 940

Leu Arg Ala Ser Phe Leu Leu Ala Gln Gln Arg Leu Leu Glu Asp Arg
945 950 955 960

Lys Asp Val Val Val Leu Val Ile Leu Arg Pro Asp Ala His Arg Ser
965 970 975

Arg Tyr Val Arg Leu Arg Gln Arg Leu Cys Arg Gln Ser Val Leu Leu
980 985 990

Trp Pro His Gln Pro Ser Gly Gln Arg Ser Phe Trp Ala Gln Leu Gly
995 1000 1005

Thr Ala Leu Thr Arg Asp Asn Gln His Phe Tyr Asn Gln Asn Phe
1010 1015 1020

Cys Arg Gly Pro Thr Thr Ala Glu
1025 1030

7 7 / 8 8

<210> 9

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 9

tcgtcgtttt gtcgttttgt cgtt

24

<210> 10

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 10

tccatgacgt tcctgacgtt

20

7 8 / 8 8

<210> 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 11

agactgggta cctggcaaga

20

<210> 12

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 12

gctattcdgc dgtidggac

18

<210> 13

<211> 20

7 9 / 8 8

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 13

caacctgaaa gtcctagacg

20

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 14

ggcagaagtt ccggttatag

20

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

8 0 / 8 8

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 15

agctacaaca gccagccctt

20

<210> 16

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 16

aggcgcagtg cagagggtt

19

<210> 17

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

81 / 88

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 17

ctgcgcaagc tcaacctgt

19

<210> 18

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 18

aagggctggc tgtttagct

20

<210> 19

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

8 2 / 8 8

<400> 19

ctgccttcct accctgtga

19

<210> 20

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 20

gtggtaatg aaggacaggt t

21

<210> 21

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 21

gcagttccac ttgaggttga

20

8 3 / 8 8

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 22

acgaagtcag agtcgtgcaa

20

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 23

aggaagagcc agttgcagtt

20

8 4 / 8 8

<210> 24

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 24

ctgaaagtc tagacgtgag

20

<210> 25

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 25

tcttgccagg taaccagtct

20

<210> 26

<211> 21

8 5 / 8 8

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 26

ggacctctgg tactgcttcc a

21

<210> 27

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 27

aagctcgttg tacacccagt ct

22

<210> 28

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

8 6 / 8 8

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 28

gaaggtgaag gtcggagtc

19

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 29

gaagatggtg atgggatttc

20

<210> 30

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

8 7 / 8 8

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 30

gtggaactgt tttagcatc

19

<210> 31

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 31

cacagcactc tgagctttgt

20

<210> 32

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

8 8 / 8 8

<400> 32

tggcattgtc atggactctg

20

<210> 33

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 33

aggggcgatg atcttgatct

20

<210> 34

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> An artificially synthesized primer sequence

<400> 34

gggcacagcc ctgaccaggg

20

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.